UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER – TOULOUSE

UNITÉS MÉDICALES

ANNÉE 1971 — N° 179

ASPECTS CYTOCHIMIQUES DE LA MALSÉGRÉGATION CHROMOSOMIQUE CONGÉNITALE

(Étude de 161 malades et de 82 sujets témoins)

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement le 29 Septembre 1971

par

Michel ROLLAND

Interne des Hôpitaux

Membres du Jury

MM. R. SOREL, *Président*

J. RUFFIÉ

J. DUCOS *Assesseurs*

C. RÉGNIER

P. COLOMBIÈS *Suppléant*

(Travail du Département d'Hématologie, d'Immunologie et de Génétique)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536510_0057

ASPECTS CYTOCHIMIQUES
DE LA
MALSÉGRÉGATION CHROMOSOMIQUE CONGÉNITALE

(Étude de 161 malades et de 82 sujets témoins)

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER – TOULOUSE

UNITÉS MÉDICALES

ANNÉE 1971 — Nº 179

ASPECTS CYTOCHIMIQUES DE LA MALSÉGRÉGATION CHROMOSOMIQUE CONGÉNITALE

(Étude de 161 malades et de 82 sujets témoins)

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement le 29 Septembre 1971

par

Michel ROLLAND

Interne des Hôpitaux

Membres du Jury

MM. R. SOREL, *Président*

J. RUFFIÉ

J. DUCOS *Assesseurs*

C. RÉGNIER

P. COLOMBIÈS *Suppléant*

(Travail du Département d'Hématologie, d'Immunologie et de Génétique)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER

TABLEAU DU PERSONNEL

UNITÉS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES MÉDICALES

Président de l'Université	M. LARENG
Vice-Président	M. MATHIS
Directeur de l'Unité des Scicens Médicales TOULOUSE-PURPAN	M. MONNIER
Directeur de l'Unité des Sciences Médicales TOULOUSE-RANGUEIL	M. ENJALBERT

HONORARIAT

Doyen honoraire	M. LAZORTHES
Doyen honoraire	M. CALVET
Doyen honoraire	M. BRUSTIER
Professeur honoraire	M. VALOIS
Professeur honoraire	M. TAPIE
Professeur honoraire	M. DELAS
Professeur honoraire	M. RISER
Professeur honoraire	M. BUGNARD
Professeur honoraire	M. VINCENT
Professeur honoraire	M. MOREL
Professeur honoraire	M. BOUISSET
Professeur honoraire	M. CALMETTES
Professeur honoraire	M. THOMAS
Professeur honoraire	M. LAGROT

PROFESSEURS

Clinique Médicale et Cardiologie	M. DARDENNE	Purpan
Clinique Médicale Sud	M. GADRAT	Purpan
Clinique Chirurgicale	M. FICAT	Rangueil
Clinique Chirurgicale A et Gynécologie	M. POULHES	Rangueil
Clinique Chirurgicale B et du Cancer	M. GRIMOUD	Purpan
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédie	M. PASQUIE	Purpan
Clinique Chirurgicale Orthopédique et Traumatologie	M. RIEUNAU	Purpan
Clinique de Chirurgie Cardio-vasculaire	M. ENJALBERT	Rangueil
Clinique des Maladies Cutanées et Syphilitiques	M. BAZEX	Purpan
Clinique des Maladies des voies urinaires	M. LHEZ	Purpan
Clinique des Maladies Infectieuses	M. ARMENGAUD	Purpan
Clinique Médicale Infantile et Puériculture	M. SOREL	Rangueil
Clinique Médicale de la première enfance	M. BARDIER	Purpan
Clinique de Neuro-Chirurgie	M. LAZORTHES G.	Rangueil
Clinique Neurologique et Psychiatrique	M. GERAUD	Rangueil
Clinique Obstétricale	M. PONTONNIER	Rangueil
Clinique Odonto-Stomatologique	M. CADENAT	Rangueil
Clinique Ophtalmologique	M. DEODATI	Rangueil
Clinique O.R.L. et Chirurgie Maxillo-faciale	M. CALVET	Purpan
Clinique de Pneumo-phtisiologie	M. DELAUDE	Purpan
Clinique Rhumatologique	M. RUFFIE René	Purpan
Accouchement et Obstétricie Sociale	M. MONZORIES	Purpan
Anatomie	M. BASTIDE	Purpan
Anatomie Pathologique	M. FABRE Jacques	Purpan
Anatomie Appliquée	.....	
Anesthésie et Réanimation	M. LARENG L.	Purpan
Bactériologie	Mme ENJALBERT	Rangueil
Biophysique Médicale A	M. AUVERGNAT	Purpan
Biophysique Médicale B	M. BRU	Rangueil
Cardiologie Clinique et Expérimentale	M. CALAZEL	Rangueil
Chimie Biologique	M. VALDIGUIE P.	Rangueil
Electro-Radiologie	M. MARQUES	Rangueil
Embryologie Générale	M. BROUSSY Jean	Purpan
Hématologie	M. RUFFIE Jacques	Purpan
Histologie	M. BIMES	Rangueil
Hydrologie, Thérapeutique et Climatologie	.....	
Hygiène et Médecine Sociale	M. MONNIER	Purpan
Immunologie	M. DUCOS	Purpan
Médecine Légale et Médecine du Travail	M. PLANQUES	Purpan
Pathologie Chirurgicale	M. DAMBRIN	Purpan
Pathologie Générale et Médecine Expérimentale	M. SENDRAIL	Rangueil
Pathologie Médicale	M. RIBAUT	Purpan
Physiologie	M. LAPORTE Yves	Rangueil
Physiologie Appliquée et Pharmacologie	M. BAISSET	Rangueil
Sémiologie et Clinique Médicale	M. LAPORTE Jacques	Purpan
Thérapeutique	M. DARNAUD	Rangueil

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Histologie et Embryologie	M. GUILHEM	Rangueil
Anatomie Pathologique	M. BOUISSOU	Rangueil
Biochimie Médicale	M. DOUSTE-BLAZY	Rangueil
Histologie et Embriologie	M. PLANEL	Purpan
Oto-Rhino-Laryngologie	M. CLAUX	Rangueil
Pathologie Médicale	M. BOULARD	Purpan
Physiologie	M. MONTASTRUC	Rangueil
Physiologie	M. BESSOU	Purpan
Pneumo-Phtisiologie	M. MIGUERES	Rangueil

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie Pathologique	M. FABRE Jean	Purpan
Bactériologie, Parasitologie, Virologie	Mme LARENG M.-B.	Purpan
Biochimie Médicale	M. VALDIGUIE Pierre	Rangueil
Carcinologie	M. ESTRADE	Purpan
Chirurgie Générale	M. GEDEON	Rangueil
Chirurgie Générale	M. SARRAZIN	Rangueil
Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire	M. ESCHAPASSE	Purpan
Electro-Radiologie	M. PONS	Purpan
Electro-Radiologie	M. ROULLEAU	Rangueil
Médecine Générale et Thérapeutique	M. BOLINELLI	Purpan
Médecine Générale	M. ARLET	Rangueil
Pédiatrie	M. DALOUS	Purpan
Neuro-Chirurgie	M. ESPAGNO Jacques	Purpan
Psychiatrie	M. GAYRAL	Purpan
Médecine Générale Thérapeutique	M. SUC	Rangueil
Pédiatrie	M. REGNIER	Purpan
Médecine Générale	M. RIBET	Rangueil

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

Anatomie et Organogénèse	M. JUSKIEWENSKI	Rangueil
Anesthésiologie	M. VIRENQUE C	Rangueil
Bactériologie - Virologie	Mme DIDIER	Rangueil
Biophysique	M. REGIS	Rangueil
Biophysique	M. GUIRAUD R.	Purpan
Cardiologie	M. BONHOURE	Rangueil
Chirurgie Générale	M. ESCAT Jean	Rangueil
Chirurgie Générale	M. COSTAGLIOLA	Purpan
Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire	M. PUEL	Rangueil
Dermatologie, Vénérologie	M. DUPRE	Rangueil
Gynécologie et Obstétrique	M. PONTONNIER G.	Rangueil
Histologie, Embryologie, Cytogénétique	M. SOLEILHAVOUP	Rangueil
Immunologie, Hématologie, Maladies du Sang	M. BIERME R.	Rangueil
Médecine Générale	M. RASCOL	Purpan
Médecine Générale et Thérapeutique	M. BES	Rangueil
Médecine Interne	M. FEDOU R.	Purpan
Médecine Interne	M. LE TALLEC	Rangueil
Médecine Légale	M. GREZES-RUEFF	Purpan
Médecine du Travail	M. PUJOL M.	Purpan
Néphrologie	M. CONTE Jean	Purpan
Neurochirurgie	M. LAZORTHES Y.	Rangueil
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique	M. UTHEZA Guy	Rangueil
Parasitologie	M. LARROUY	Purpan
Pédiatrie Génétique Médicale	M. ROCHICCIOLI	Rangueil
Pneumo-Phtisiologie	M. ALBAREDE J.-L.	Purpan
Pneumo-Phtisiologie	M. JOVER	Rangueil
Physiologie	M. GERALD J.-P.	Rangueil
Physiologie	M. PAGES B.	Purpan
Radiologie	M. COMBES P.	Purpan
Rhumatologie	M. FOURNIE A.	Purpan
Thérapeutique	M. DENARD	Purpan
Thérapeutique, Réanimation Médicale, Rééducation fonctionnelle et Hydrologie	M. SALVADOR M.	Purpan
Urologie	M. PONTONNIER Fr.	Purpan

AGRÉGÉS

Chirurgie Générale	M. GAUBERT	Purpan
Ophtalmologie	M. BEC	Purpan

AGRÉGÉS LIBRES

Chirurgie Générale	M. SOUQUET	Purpan
Pathologie Chirurgicale	M. DIEULAFE	Rangueil
Pathologie Expérimentale	M. GLEIZES	Purpan
Obstétrique	M. ESPAGNO G.	Rangueil

MAITRE DE CONFÉRENCES ASSOCIÉ

Psychiatrie	M. LABOUCARIE	Purpan

ADMINISTRATION

Secrétaire Général de l'Université	M. PRINEAU J.-P.

L'Université Paul-Sabatier déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 mai 1891.)

A MON PERE

A MA MERE.

Vous nous avez donné le goût de la Médecine. Vous êtes toujours pour nous un modèle de rigueur dans le raisonnement, de générosité et d'ouverture dans la vie.
Que ce modeste travail dans lequel vous nous avez aidé, témoigne de notre reconnaissance.

A JACQUES

A MON FRERE, A MES SOEURS

A GABRIELLE, A MES ENFANTS

A TOUTE MA FAMILLE

A MES BEAUX-PARENTS.

A LA MEMOIRE DE NOTRE MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BARDIER

Professeur de Clinique des Maladies de la
Première Enfance - Médecin des Hôpitaux.

Il avait accepté de présider notre
Jury de Thèse.
Il nous avait reçu dans son service
et nous avait séduit par la clarté de
son enseignement.
Nous garderons le souvenir d'un Maître
proche de ses élèves, pratiquant la
Médecine avec une grande humanité.
Sa sagesse, sa simplicité, son accueil
souriant resteront pour nous un exemple.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. SOREL

Professeur de Clinique Médicale Infantile et de Puériculture
Officier de la Légion d'Honneur

Nous avons trouvé auprès de vous
une sollicitude paternelle.
Votre expérience et votre sens
clinique ont été pour nous un exemple
Vous avez accepté, avec la bienveil-
lance et la gentillesse que tous vous
reconnaissent, de juger notre travail
Veuillez trouver ici l'expression de
notre profonde reconnaissance et de
notre respectueux attachement.

A NOTRE JURY DE THESE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. RUFFIE.

Directeur de recherche au C.N.R.S.
Directeur du Centre d'Hémotypologie du C.N.R.S.
Advisory professor à la New-York University.

Vous nous avez donné le goût de la génétique et vous nous avez introduit dans ce chapitre passionnant de la pathologie qui déborde le cadre de la maladie pour poser les questions fondamentales de l'Hominisation et du devenir de l'homme.
Vous nous avez accueilli au sein du Centre de Transfusion.
Votre conception de la recherche, votre enseignement, votre esprit de synthèse marqueront toute notre vie professionnelle.
Nous espérons nous montrer digne de la confiance que vous nous témoignez.

MONSIEUR LE PROFESSEUR DUCOS

Professeur d'Immunologie - Biologiste des Hôpitaux - Directeur du Centre Régional de Transfusion Sanguine - Chevalier de l'Ordre National du Mérite.

Nous avons toujours admiré votre esprit scientifique et la clarté de votre enseignement.
Nous avons trouvé, au sein du Centre de Transfusion Sanguine que vous dirigez, une grande compréhension et une aide précieuse.
Nous sommes très heureux que vous acceptiez de juger notre travail et nous vous remercions de la grande bienveillance que vous nous avez toujours témoigné.

MONSIEUR LE PROFESSEUR C. REGNIER

Professeur de Pédiatrie
Médecin des Hôpitaux.

Au cours de nombreux stages de Pédiatrie, nous avons pu admirer vos qualités d'organisation et de tenacité. Nous avons toujours trouvé en vous un maître bienveillant, soucieux de la formation de ses élèves et de la qualité des soins apportés à ses malades. Vous avez su nous faire aimer la pathologie néo-natale et nous sommes particulièrement fiers de continuer à travailler dans votre service.
Nous vous remercions de bien vouloir siéger à notre Jury de Thèse et nous vous assurons de notre respectueux attachement.

MONSIEUR LE DOCTEUR P. COLOMBIES.

Chargé de cours à la Faculté de Médecine
Biologiste des Hôpitaux
Chef de Service au Centre de Transfusion
Sanguine, d'Hématologie et de Génétique humaine.

Vous nous avez reçu dans votre service et enseigné la cytogénétique.
Vous nous avez guidé et conseillé dans la découverte de l'aspect biologique des aberrations chromosomiques.
Vous avez dirigé et surveillé ce travail et votre compétence nous a été indispensable.
Votre amitié, votre compréhension nous ont profondément touché.
Nous souhaitons poursuivre cette étude avec votre aide.
Nous vous remercions d'accepter de juger notre travail qui est aussi le vôtre.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE ET DES HOPITAUX.

MONSIEUR LE PROFESSEUR DALOUS

Nous avons toujours admiré votre intelligence et la clarté de vos exposés.
Nous vous assurons de notre attachement.

MONSIEUR LE PROFESSEUR ROCHICCIOLI

Votre grande compétence et vos connaissances nous ont toujours été très utiles.
Nous souhaitons profiter longtemps de votre enseignement.

MONSIEUR LE PROFESSEUR PASQUIE

MONSIEUR LE PROFESSEUR JUSKIEWENSKI.

A nos aînés et amis,
Médecins des Services de Pédiatrie et de Médecine Infantile.

J. MARTINEZ
Ph. BARTHE
J. GHISOLFI

E. SOREL
J.P. CARRIERE
E. SUAU

P. ANDRIEU

H. PACZUSZYNSKI

A tous nos amis de l'Internat.

A mon ami Guy DUTAU

dont la bonne humeur et l'optimisme nous ont toujours été d'un grand réconfort.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE QUI NOUS ONT FORMES ET AIDES :

MM. les professeurs.

J. GADRAT
A. DELAUDE
J. LAPORTE
A. ENJALBERT
J. ARLET.

A CEUX QUI NOUS ONT ENCOURAGES ET SOUTENUS :

MM. les Docteurs : J. LASSERRE
M. GIRARD
J. C. LIGOU
E. SOREL
P. BEZY
M. CARTON
A.M. BENAZET
L. LEGRESSUS
P. BOYER.
J.P. CAUSSANEL
J. BROUCHET
Y. DESMOULINS

A MONSIEUR LE DOCTEUR GROZDEA.

Depuis plusieurs années, vous avez travaillé sur la cytochimie des aberrations chromosomiques.
Vous avez avec beaucoup de gentillesse accepté que votre étude serve de base à notre travail.
Nous vous remercions de nous avoir apporté le témoignage de votre sympathie et de votre compréhension.

A tout le personnel chercheur et technicien de l'Unité de Recherche d'Immunologie et de Cytogénétique de l'I.N.S.E.R.M. (U. 100).

A tout le personnel chercheur et technicien du Centre d'Hémotypologie du C.N.R.S.

Notre reconnaissance va tout particulièrement à

Madame MOUNIE

Madame REY

Mademoiselle MARTIN

P L A N

I. INTRODUCTION - HISTORIQUE.

II. ETUDE TECHNIQUE.

. Méthodes d'étude.

. Les réactions cytochimiques.

. Etude cytogénétique. Etablissement du caryotype.

III. RESULTATS.

. La phosphatase alcaline leucocytaire.

. La myéloperoxydase.

. La réaction au P.A.S.

. Synthèse des résultats.

IV. DISCUSSION.

. Chromosome 21 et synthèses enzymatiques.

. Myéloperoxydase et gonosomes.

. Déséquilibre enzymatique et malségrégation chromosomique.

V. CONCLUSION.

ABREVIATIONS UTILISEES

Ch_1	:	Christchurch Chromosome
G_6PD	:	Glucose 6 phosphate deshydrogénase
G_1PUT	:	Glucose 1 phosphate uridyltransférase
LDH	:	Lactico-deshydrogénases
LLC	:	Leucémie lymphoïde chronique
LMC	:	Leucémie myéloïde chronique
L	:	Lymphocyte
M.P.O.	:	Myéloperoxydases
6.P.G.D	:	6 phosphogluconate deshydrogénase
PAL	:	Phosphatases alcalines leucocytaires
PAS	:	Réaction au périodic-acid-Schiff
PHA	:	Phytohémagglutinine
PH_1	:	Chromosome Philadelphic
Pn	:	Polynucléaire
PK	:	Pyruvate-kinase
T_{21} ou Tri_{21}	:	Trisomie 21
Xr	:	Chromosome X en anneau (X ring)
	:	Moyenne
	:	Ecart-type.

INTRODUCTION

HISTORIQUE

L'histoire des maladies par aberration chromosomique débute tôt, dès le 19e siècle, où l'on peut déjà trouver la description clinique détaillée du phénotype de la trisomie 21. En effet, dès 1838, Esquirol remarque l'aspect stéréotypé de ces enfants débiles mentaux, et Seguin, en 1846, en dresse un tableau assez complet. Mais, c'est Langdon Down (40) en 1866, qui le premier isole ce syndrome et lui donne le nom impropre, mais qui persistera pendant près d'un siècle, "d'idiotie mongolienne".
La dénomination de "mongolisme" est alors largement utilisée et doit certainement son succès à l'évocation du faciès très particulier de ces enfants.

Au début de 1959, Turpin, Lejeune et Gauthier (178) en établissant l'origine chromosomique de cette affection, permettent de rapporter ce syndrome à sa véritable cause et introduisent le terme beaucoup plus satisfaisant de trisomie 21.

Entre temps, pendant près d'un siècle, il a fallu de nombreux travaux pour parvenir à établir le caryotype humain et à en donner les caractéristiques essentielles, notamment en ce qui concerne le nombre de chromosomes.
Nous rappellerons d'abord brièvement ces travaux.

Winiwarter (194), Painter (130) et bien d'autres auteurs avaient tenté par l'étude systématique de biopsies testiculaires chirurgicales de trouver le nombre de chromosomes de l'espèce humaine. Mais leur technique de coupe de tissus ne leur permettait pas une approche suffisante pour établir de façon certaine ce chiffre.
De 1930 à 1956, le chiffre communément admis par tous les généticiens était de 48 chromosomes pour une cellule diploïde.

Mais dès 1934, Krustchov et Berlin commencent à mettre en train la culture de leucocytes du sang périphérique.

Le mérite de Hsu (81) fut de découvrir le choc hypotonique et de permettre un étalement des chromosomes de telle façon que le nombre de ceux-ci et même leur aspect morphologique devenaient beaucoup plus aisé à étudier.

C'est ainsi que le chiffre de 46 chromosomes put être affirmé comme étant spécifique de l'espèce humaine par Tijo et Levan en 1956 (176).

Au cours de la même année, Ford et Hamerton devaient confirmer par une technique différente (dilacération des tubes séminifères de biopsies chirurgicales) le chiffre établi par Tijo et Levan.

En 1960, des cytogénéticiens de plusieurs pays se réunissaient à Denver pour établir une méthode de classement des chromosomes humains qui devait devenir une convention internationale permettant ainsi la transmission aisée, entre spécialistes, des informations dans ce domaine.
Une réunion de travail analogue eut lieu à Londres, en 1963, établissant définitivement l'uniformisation de l'appellation des paires chromosomiques, et leur classement en 8 groupes selon leur taille et la position de leur centromère.

Enfin, la convention de Chicago, en 1966, définissait la nomenclature internationale des aberrations chromosomiques. Il était alors possible de définir un caryotype de la façon suivante :

nombre total de chromosomes suivi d'une virgule,

- puis mention des chromosomes sexuels,
- et éventuelles anomalies.

Cette méthode permettait en quelques chiffres et lettres de caractériser un caryotype anormal.

La découverte d'anomalies dans le caryotype humain fut rapide et suivit de près la mise au point d'une technique courante et la description du caryotype normal.

Dès le début de l'année 1959, Lejeune, Turpin et Gauthier publiaient la découverte de la trisomie 21. En moins d'un an, les principales anomalies numériques devaient être décrites.

Jacobs et Strong, en 1959, (84) mettaient en évidence le déterminisme XXY du syndrome de Klinefelter quelques semaines après la publication de Lejeune.

Wilkins (193), dès 1954, avait émis l'hypothèse, avec d'autres auteurs : Polani et Nelson, Lamy, en 1957, d'une constitution chromosomique XO à l'origine du syndrome de Turner, en se basant sur l'examen de la chromatine sexuelle des cellules de frottis buccal.

Au cours du mois d'Avril 1959, Ford, Jones, Polani, de Almeïda et Briggs (48) confirmaient les idées de Wilkins en objectivant le déterminisme XO du caryotype du Turner. Toujours au cours de la même année, Jacobs, Baikie, Court-Brandt, Mac Gregor, Mac Lean et Harden (83) découvraient le syndrome triplo X.

Enfin, 5 mois seulement après la découverte de la trisomie 21, Turpin, Lejeune, Lafourcade et Gauthier (180) observaient et rapportaient le premier exemple de translocation chez l'homme.

Ainsi, en moins d'un an, les aberrations chromosomiques par malségrégations les plus fréquentes avaient été décrites. Les deux années suivantes devaient apporter la découverte des autres anomalies de ce type :

- trisomie 13 par Patau et coll. (132)
- trisomie 18 par Edwards et coll. (42)

Entre 1961 et 1970, furent découvertes par différents auteurs, des anomalies plus discrètes du caryotype humain. Il a fallu accumuler un nombre important d'observations et confronter de façon détaillée le phénotype des individus qui en étaient porteurs pour pouvoir isoler de nouveaux syndromes.

Encore faut-il bien remarquer que plusieurs signes cliniques ou biologiques, ne peuvent toujours être rattachés à telle ou telle délétion chromosomique avec certitude, le nombre d'observations étant restreint dans certains cas.
Il semble donc que l'époque des grandes découvertes dans les anomalies du caryotype humain soit révolue.
Il est tout à fait remarquable qu'entre 1959 et 1961, les anomalies numériques ont toutes été retrouvées et parfaitement décrites par les cytogénéticiens.

Au sein de ces anomalies chromosomiques numériques, la trisomie 21, la première découverte, devait assez rapidement se révéler comme la plus passionnante sur le plan hématologique.

Déjà, dès 1947, Turpin et Bernyer (177) avaient noté que l'indice de segmentation nucléaire des polynucléaires du sang circulant était plus bas chez les enfants présenant ce syndrome que dans un groupe d'enfants normaux témoins. (formule d'Arneth déviée à gauche).
Les enfants trisomiques 21 ont un total de 1 à 2 lobules contre 3 et 4 lobules, quelquefois 5, dans la population témoin normale.

Or, ces modifications surviennent en dehors de tout contexte infectieux comme l'ont prouvé Shapiro, dès 1949,(162) puis Lüers, en 1954,(107).
Mittwoch (121), en 1958, montrait que le drumstick des polynucléaires était bien moins fréquemment observé chez les filles trisomiques 21 que dans une population témoin normale.

Enfin, et surtout, la fréquence des hémopathies maligne à type de leucose aiguë chez ces enfants, était particulièrement frappante. Elle fut mise en évidence très tôt, bien avant que ne soit connu le déterminisme chromosomique de l'affection.
Les travaux de très nombreux auteurs (Shunk et Lehman en 1954, Bernard et coll. en 1955, Stewart en 1961 et Holland en 1962) permirent de montrer que la fréquence des leucoses aiguës était 20 fois plus forte chez les trisomiques.
Ce point était particulièrement intéressant et ne devait pas tarder à poser le problème d'une relation entre l'aneuploïdie du caryotype et les hémopathies malignes.

Miller (119) en 1961 et Baikie (4) la même année, rapportèrent des observations troublantes d'association, dans la descendance de parents normaux ou porteurs de translocation équilibrée, d'enfants atteints d'aberrations chromosomiques numériques et d'enfants à caryotype normal mais présentant une leucose aiguë.

Lorsqu'en 1960, Nowell et Hungerford (127) décelèrent la présence, dans les cellules médullaires et dans le sang périphérique de malades atteints de leucémie myéloïde chronique, d'un petit chromosome acrocentrique, type 21, avec délétion de ses bras inférieurs (Ph_1) -
lorsque surtout, l'accumulation des données cytogénétiques et cliniques permit d'affirmer qu'il s'agissait du même chromosome qui, par triplication, entraîne une trisomie 21, l'intérêt de l'étude des chromosomes du groupe G devint évident.

Mais la découverte du Ph_1 ne résume pas à elle seule le problème posée par les anomaliesdu caryotype dans les hémopathies malignes.

Ruffié et Lejeune en 1962, Ruffié en 1963 (152-153-154) rapportèrent plusieurs observations de leucose aiguë myéloblastique avec disparition complète d'un chromosome du groupe G (21 probablement).

Gunz et coll. (70-71) relèvent en 1962 une observation familiale où les sujets sains comme les sujets malades portent une délétion partielle des bras supérieurs d'un chromosome du groupe G (certainement le 21), qu'ils appellerons "Christchurch Chromosome" (Ch_1).
Cette anomalie, à l'opposé du Ph_1, est retrouvée au niveau de différents tissus et existe chez des porteurs sains.
Dans cette famille, on note à chaque génération, une ou plusieurs leucémies lymphoïdes chroniques et une ou plusieurs néoplasies viscérales.

Ces différentes observations militaient en faveur d'un rôle tout à fait particulier du chromosome 21, ou du moins d'un des chromosomes qui constituent le groupe G.

Certains auteurs (Ruffié. 153 - Lejeune. 99-100) tiennent pour probable que le chromosome 21 porte un ou plusieurs locus contrôlant l'hématopoïese. Ils précisent bien cependant que leur hypothèse demande des confirmations ultérieures.

Ainsi, chromosome 21 et trisomie 21 ont-ils au sein des malségrégations chromosomiques, une place privilégiée par les problèmes qu'ils posent sur le plan hématologique.

Dès 1961, Mamunes et coll. (113) puis Lewis et coll. en 1963 (103) ainsi que Bousser et Tanzer (21) rapportaient quelques observations d'affections malignes survenant chez des sujets porteurs d'aneuploïdies autres que les trisomies 21 (syndromes de Turner et de Klinefelter en particulier).

Mais la fréquence de ce type d'affections dans les aneuploïdies au dépens des chromosomes sexuels ne put être confirmée par la suite comme supérieure à celle de la population générale.
Certaines observations, cependant, semblent militer en faveur d'un rapport déséquilibre caryotypique-hémopathie maligne. (Ruffié et coll. 155).

Ainsi, le caryotype aneuploïde et en particulier la trisomie 21 apparaissaient-ils riches d'enseignements et permettaient d'entrevoir une relation entre l'anomalie chromosomique et l'apparition d'une affection maligne.

Beaucoup plus troublant encore est l'aspect cytochimique et enzymologique de ces affections.

Les dosages de la phosphatase alcaline leucocytaire par des méthodes biochimiques (Hayhoe et Quaglino. 74-75) ou cytochimiques (Kaplow. 90) plus simples et tout aussi fidèles, ont été effectués très tôt.

En 1951, Valentine et Beck (185) avaient mis en évidence un taux anormalement bas de cette enzyme au cours des leucémies myéloïdes chroniques.

Ces résultats ont été depuis largement confirmés par des travaux ultérieurs et l'on connaît bien, à l'heure actuelle, cette particularité des leucémies myéloïdes qui est recherchée systématiquement au même titre que le chromosome Ph_1.
Lorsque Nowell et Hungerford découvrirent le Ph_1, en 1960, de nombreux auteurs pensèrent à une relation de cause à effet entre la délétion des bras inférieurs du chromosome 21 et la

chute du score des P.A.L..

L'étude de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la trisomie 21 devait confirmer cette façon de voir puisque, dès 1962, Alter et coll. (1-2), Lennox et coll. démontraient l'augmentation du score enzymatique dans cette affection et ce, dans des proportions très intéressantes.

En effet, le rapport sujet trisomique-sujet normal, pour le score de Kaplow, est de 1,65 soit peu différent de 1,5.
Il semblait alors évident que la délétion du chromosome 21 dans le Ph_1 touchait le locus qui se trouvait en triple exemplaire dans la trisomie 21. Mais cette façon de voir, simple, ne correspond vraisemblablement pas à la réalité comme nous le verrons au cours de ce travail.

Quoiqu'il en soit, le chromosome 21 apparaissait comme le chromosome à étudier dans le cadre des affections hématologiques.

Le mérite de cette découverte d'anomalies hématologiques complexes associées à des anomalies du chromosome 21 est encore d'avoir attiré l'attention sur l'intérêt de l'étude cytochimique des leucocytes, non seulement, dans certaines maladies du sang mais encore, dans les anomalies chromosomiques, ces deux types d'affections apparaissant comme liées dans un certain nombre d'observations.

Si la progression dans la découverte du rôle de certains chromosomes paraît avancée, par contre, la recherche d'une étiologie dans les aberrations chromosomiques par mal-ségrégation ne suit pas la même voie.
En effet, depuis longtemps, l'on connaît la fréquence plus grande d'apparition des trisomies 21 chez les mères âgées. Mais cette constatation indiscutable apparaît d'un intérêt relatif.
De plus, à mesure que s'accumulent les observations, on note fréquemment l'existence de trisomiques 21 issus de parents jeunes.

D'autre part, les autres malségrégations chromosomiques congénitales (trisomie 13 - trisomie 18 - Turner XO - Klinefelter XXY) ne s'accompagnent pas de façon très significative d'un âge élevé de la mère.

Or, la malségrégation chromosomique, qu'elle survienne à la meiose, au moment de la formation des gamètes, à la première division réductionnelle ou à la deuxième équationnelle, ou qu'elle survienne pendant les premières mitoses de l'oeuf fécondé, répond toujours à un même mécanisme général : la disjonction des chromosomes homologues et leur séparation est incomplète pour certains d'entre-eux. La migration le long des fibres fusoriales se fait de façon anormale.

Ce type d'anomalies de la migration a déjà été observé chez certains hybrides végétaux (hybrides de Morelles-Turpin 179) et décrit sous le nom de chromosome"trainard".(Lagging-Chromosome). Ce phénomène existe très vraisemblablement chez l'homme comme le suggèrent les observations de monozygotisme hétérocaryote (Lejeune) et a été directement observé après irradiation chez la souris femelle entraînant la perte d'un chromosome sexuel après la fécondation (L.B. Russel).

On pourrait faire beaucoup de suppositions sur cette maldisjonction chromosomique.

L'anomalie est-elle située au niveau des chromosomes eux-mêmes ou correspond-elle à un défaut biochimique ?

L'on pourrait très bien envisager un déficit énergétique à l'échelle cellulaire au moment de la division, ce déficit rendant impossible la migration normale de deux chromosomes ou de deux chromatides.
Dans cette optique, il pouvait paraître intéressant de faire l'étude cytochimique systématique de toutes les malségrégations chromosomiques, et de rechercher chez leurs ascendants, un déficit enzymatique témoin de cette "incapacité" à assurer une meiose ou une mitose strictement normales.

Ainsi, nous avons été amenés à réaliser cette étude sur les leucocytes du sang périphérique des sujets atteints et de leurs parents.

Il semble de plus en plus vraisemblable, en effet, à mesure que l'on avance dans l'étude des anomalies chromosomiques d'une part, dans l'étude des relations chromosomes-hémopathies malignes - cytochimie leucocytaire d'autre part, qu'il existe un rapport étroit entre une perturbation enzymatique complexe et l'apparition de désordres à l'échelle chromosomique, eux-mêmes probablement à l'origine d'une affection maligne.
Cette filiation trouble enzymatique - anomalie chromosomique est encore loin d'être établie de façon formelle.

Notre travail est une tentative d'approche de ce problème et une contribution à son étude.

Il a demandé la conjonction étroite d'un laboratoire de cytogénétique et d'un laboratoire de cytochimie. Il a pu être réalisé au Centre Régional de Transfusion Sanguine et de Génétique Humaine de Toulouse avec l'aide de l'unité I.N.S.E.R.M. et du Centre d'Hemotypologie du C.N.R.S. qui ont déjà travaillé sur ce sujet depuis plusieurs années.

Nous nous proposons de faire une synthèse à un moment déterminé de ces travaux, sachant parfaitement qu'une étude plus complète, sur un plus grand nombre de cas et avec de nouvelles techniques cytogénétiques et cytochimiques, devra être poursuivie.

ETUDE TECHNIQUE

METHODES D'ETUDE

Avant d'envisager l'étude systématique des réactions cytochimiques sur les leucocytes du sang périphérique de sujets atteints d'anomalies chromosomiques congénitales ou de leurs parents, il fallait faire un choix au niveau des réactions à pratiquer et des sujets à étudier.

Le polynucléaire renferme, en effet, l'équipement enzymatique le plus complet, découvert jusqu'ici dans les cellules vivantes (Vergnes 187).
Il fallait donc se limiter à quelques réactions cytochimiques que nous considérions comme particulièrement importantes. Il était également nécessaire de délimiter, avec précision, les populations témoins et les populations malades à étudier.

I. LES REACTIONS CYTOCHIMIQUES.

Notre but était de rechercher une anomalie quantitative par l'établissement d'un score, de donner aussi souvent que possible par un histogramme, le "profil" enzymatique du substrat ou de l'enzyme étudié.

Nous nous sommes orientés vers les enzymes intervenant dans le métabolisme énergétique cellulaire, ou vers l'évaluation de substrats qui sont l'aboutissement d'une chaîne enzymatique, en pensant que ces enzymes à rôle énergétique étaient intéressées par la division cellulaire.

Nous avons choisi de pratiquer les réactions suivantes :

- réaction des myéloperoxydases.
- réaction du P.A.S.
- réaction des phosphatases alcalines.

La myéloperoxydase (M.P.O.)

La myéloperoxydase participe aux réactions de glycolyse (30-39-142).
On sait également son rôle dans la formation de D.P.N.H. au niveau des lysosomes ou des mitochondries (189).
Le parenchyme testiculaire contient une quantité importante de peroxydases et il est probable que cette enzyme joue un rôle dans la maturation des cellules germinales (57-63-175).
Il apparaît donc de façon claire que, par sa participation au métabolisme glucidique et par ses taux élevés dans le parenchyme testiculaire, son rôle au niveau des cellules en division doit être considéré comme particulièrement important.

La réaction du P.A.S.

L'acide périodique-Schiff permet la coloration de groupements aldéhydes des polysaccharides P.A.S. +. (77).
Ce substrat P.A.S. +, à l'état normal, couvre une partie des besoins énergétiques cellulaires grâce à un processus de glycolyse, en particulier, ceux qui sont nécessaires à l'accomplissement d'une meiose ou d'une mitose (133-175).
Le processus de glycolyse peut, dans des circonstances pathologiques, être gêné ou même arrêté par une perturbation enzymatique sur la chaîne métabolique touchant la G_6PD, la P.K., les L.D.H. ou la phosphorolyse (10-28-122-131-148).
Le substrat P.A.S. + s'accumulera alors au niveau d'une ou de plusieurs lignées sanguines.

A l'opposé, on peut observer une diminution du matériel P.A.S. - par insuffisance de formation (149-150-160) ou par pénétration trop faible au niveau des cellules sanguines (20).

C'est le cas, par exemple, des cellules comportant un chromosome Ph_1 qui ont quelques difficultés à survivre et à se diviser dans les cultures à court ou à long terme (26-59-116). C'est encore le cas des polynucléaires neutrophiles des sujets leucémiques qui ont perdu une partie de leurs pouvoirs phagocytaires et bactéricides (170).

L'étude d'un substrat P.A.S. + est donc parfaitement justifiée comme témoin du fonctionnement d'une chaîne enzymatique énergétique au niveau de la cellule, cette chaîne intervenant vraisemblablement au moment de la division cellulaire.

Les phosphastases alcalines leucocytaires. (P.A.L.).

Comme les deux réactions cytochimiques précédentes, la mise en évidence des P.A.L. intéresse une enzyme dont le rôle énergétique est majeur.
Les P.A.L., en effet, participent au métabolisme phosphoglucidique de la cellule et interviennent dans la formation d'A.T.P. (12-86). Ce rôle énergétique et la formation d'A.T.P. pendant la mitose ont bien été mis en évidence par Jacobs (83).

Nous avons donc choisi d'étudier trois enzymes ou substrats dont le rôle dans le métabolisme cellulaire, en particulier, au moment de la division, est déterminant.
Envisageons le choix que nous avons fait pour ce travail au niveau de l'étude clinique.

II. ETUDE CLINIQUE. POPULATIONS ETUDIEES.

Mettre en évidence des modifications des réactions cytochimiques chez des sujets porteurs d'aberrations chromosomiques numériques ne posait pas de difficultés majeures et nous les avions déjà étudiées en partie. C'était un point de départ indispensable pour l'étude que nous nous proposions de faire.
Nous avons donc rassemblé un certain nombre de sujets trisomiques 21 pour lesquels une étude clinique, biologique, cytochimique et cytogénétique a été faite. Nous avons ainsi rassemblé 79 observations.
Nous avons également étudié des sujets porteurs d'autres anomalies chromosomiques autosomiques :

- trisomie 18 : 3 cas,
- trisomie 13 : 2 cas.

Enfin, nous avons repris toutes les observations que nous possédions de malségrégations gonosomiques simples :

- syndrome de Turner XO ou en mosaïque (9 cas)
- syndrome de Klinefelter XXY ou XXYY (6 cas).

Pour tous ces malades, l'étude cytogénétique et cytochimique a été réalisée conjointement.

Nous avons ensuite envisagé ce qui pouvait être modifié chez les ascendants de porteurs de malségrégations congénitales.
Nous avons donc fait une étude de 33 couples, parents d'enfants trisomiques 21 pour lesquels cytochimie leucocytaire et caryotype ont été pratiqués.
Pour les ascendants de syndrome de Turner ou de Klinefelter, le problème s'est posé différemment.
En effet, il n'est pas toujours aisé de porter ce diagnostic dans la première enfance. D'autre part, beaucoup de ces malades, viennent directement faire établir leur caryotype à un âge où ils ne sont pas accompagnés par leurs parents.

Dès lors, une fois établi le diagnostic cytogénétique, il devient plus difficile de revoir ces parents et nous avons été contraints de les rechercher avec quelques difficultés dans notre région. Ceci explique le nombre restreint de sujets dans ce groupe.

Enfin, l'étude systématique des scores cytochimiques des ascendants de porteurs de malségrégations chromosomiques congénitales ne peut se concevoir que par comparaison avec des sujets normaux témoins, et mieux encore, avec des couples normaux témoins.

Nous avons donc prélevé une population témoin issue de la même région géographique (la grande majorité de nos malades et de nos sujets normaux sont originaires du Sud-Ouest de la France : Bassin-Aquitain et Vallées Pyrénéennes).

Nous avons choisi les couples témoins sur les critères suivants :

- couples âgés de moins de 40 ans.
- ayant au moins 2 enfants, phénotypiquement normaux.
- en dehors de toute grossesse en cours pour la mère.
- en dehors de tout traitement médicamenteux (contraceptifs oraux par exemple) risquant de modifier les réactions cytochimiques.

Ainsi, pour chaque réaction cytochimique, nous aurons plusieurs catégories de sujets à étudier :

- population témoin, couples témoins
- trisomiques 21
- autres malségrégations autosomiques : trisomie D et E
- syndrome de Turner et de Klinefelter
- parents de trisomiques 21
- parents de sujets XO et XXY.

III. TRAITEMENT DES RESULTATS.

Chaque fois que cela a été possible (populations suffisamment nombreuses) nous avons établi la moyenne des résultats trouvés.

De plus, pour la population témoin normale, nous avons établi la moyenne, l'écart-type, et un intervalle de confiance des valeurs normales déterminé avec un risque de 5 %, pour chaque réaction cytochimique.

Pour les syndromes de Turner et de Klinefelter, ainsi que pour leurs parents, et pour les trisomies D et E, nous donnerons les résultats trouvés sans aucun calcul statistique, le nombre des sujets ne le permettant pas.

Pour chaque réaction cytochimique et dans chaque syndrome étudié, nous dresserons aussi souvent que possible, à partir des résultats trouvés, un histogramme donnant ainsi un véritable "profil" cytochimique.
Cet histogramme sera construit à partir du nombre de cellules comptées pour chaque coefficient (0-1-2-3). 100 cellules ont été examinées pour chaque réaction.

Nous donnons l'ensemble de ces résultats dans le chapitre suivant pour commenter ensuite leur valeur et leur intérêt.

LES REACTIONS CYTOCHIMIQUES

Nous envisagerons dans ce chapitre, les réactions cytochimiques que nous avons utilisées au cours de ce travail, à l'exclusion des autres.
Nous en rappellerons d'abord les qualités et les limites.

Trois qualités essentielles apparaissent comme indispensables si l'on veut utiliser ces réactions : la sureté, la sensibilité, la spécificité.

SURETE DE LA REACTION.

Elle est basée sur des conditions techniques rigoureuses qu'il faut garder d'un examen à l'autre si l'on veut pouvoir comparer les résultats de façon valable.

Il faudra donc utiliser un matériel propre, dégraissé, des frottis minces, homogènes et bien séchés.
Il est primordial d'utiliser toujours la même technique et d'en respecter les impératifs de temps, de préparation des réactifs et d'utiliser toujours les mêmes méthodes de lecture.
Enfin, les conditions extérieures de température, de pression, de degré hygrométrique, devront rester aussi constantes qu'il est possible dans un laboratoire de cytologie.

Ces précautions étant prises, il apparaît que ces réactions offrent toutes les garanties souhaitables quant à leur sureté.

SENSIBILITE DE LA REACTION.

La quantité totale des corps chimiques à mettre en évidence dans une cellule est extrêmement faible, de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-10} (77).

La sensibilité de la réaction dépend essentiellement de deux facteurs :

- la concentration plus ou moins importante du produit recherché dans la cellule, dans une zone cytoplasmique étendue ou limitée,

- la solubilité du corps chimique que l'on cherche à mettre en évidence dans les différentes solutions utilisées pour la fixation ou les différents lavages au cours des manipulations nécessaires entre deux incubations par exemple.

Cette sensibilité varie donc avec la réaction cytochimique que l'on utilise. Nous l'envisagerons avec l'étude de chaque réaction.

SPECIFICITE DE LA REACTION.

La spécificité d'une réaction cytochimique ou cytoenzymologique n'est jamais parfaite.
Elle s'adresse plus souvent à un groupe de corps chimiques pour lesquels elle est positive, plutôt qu'à tel ou tel dérivé. Il faut savoir en tenir compte dans l'interprétation des résultats et considérer la spécificité de chaque réaction séparemment.

Nous envisagerons ce point lorsque nous étudierons individuellement ces réactions.

MISE EN EVIDENCE DES PHOSPHATASES ALCALINES LEUCOCYTAIRES

La phosphatase alcaline leucocytaire est une enzyme du type enzyme de scission.
Elle appartient au grand groupe des Esterases et sont plus particulièrement, des phospho-mono-estérases dont le rôle est de permettre la scission d'un composé monophosphatasique par estérification en milieu alcalin.
De nombreuses techniques ont été utilisées (Burstone - Lejeune Hayhoe - Kaplow). (27-97-90-91-74-75).
Les plus couramment employées appartiennent aux groupes des réactions de diazocouplage (Tanzer).

La réaction est la suivante :

Phosphate de Naphtol ——phosphatase alcaline——→ libération du Naphtol.

Naphtol libéré + sel de Diazonium ——→ Composé coloré.

On proposera donc à la cellule supposée contenir des phosphatases alcalines un phosphate de naphtol :

1' α naphtyl phosphate acide de sodium

un sel de Diazonium :

le fast blue RB
fast Garnet GBC

en solution tamponnée à pH 9,5.

Un précipité brun témoignant du Diazocouplage sera retrouvé dans le cytoplasme.
La technique utilisée est dérivée directement de celle de Lejeune (97).

- solutions à préparer.

. fixateur : alcool méthylique absolu ..... 320 ml.
formol à 35 % ..... 30 ml.

. solution A : 2 amino 2 méthyl 1-3 Propanediol ..10,5 g.
eau distillée .....500 ml.

. solution B : eau distillée ..... 140 ml. à conserver
H Cl N/10 ..... 10 ml. au réfrigérateur

Colorant nucléaire de Papamiltiades (hematoxyline au sulfate de zine).

- conduite de la réaction.

. fixation : immersion des lames dans le fixateur à + 4° C pendant 30 secondes, puis séchage à l'air.

. Rinçage à l'eau courante - séchage à l'air.

. Préparation extemporanée d'une solution contenant :

Solution A : 50 ml.

Solution B : 150 ml.

Fast Garnet GBC Salt ..... 15 mg.

Naphtyl phosphate acide de sodium ..... 20 mg.

Les lames sont plongées, dans cette solution, pendant 15 minutes , puis elles sont lavées à l'eau pendant 3 minutes au moins et séchées.

Coloration pendant 10 minutes au colorant nucléaire de Papamiltiades - rinçage et séchage.

Sureté et spécificité.

La sureté de cette réaction est excellente si l'on prend soin de la réaliser en pH alcalin, et de préparer le mélange de façon extemporanée. La spécificité est également très bonne.

Résultats.

Le témoin de l'activité phosphatasique apparaît sous forme d'un précipité brun dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles du sang. Les autres cellules sanguines et médullaires sont négatives, à l'exception des érythroblastes.

Etablissement du score de Kaplow (Kaplow - Peacock).

Ce score exprime l'activité phosphatasique des polynucléaires du sang sous une forme semi-quantitative.

On compte à l'immersion 100 polynucléaires. On attribue à chacun une cote variant de 0 à 4 selon l'intensité de la positivité :

Coeff. 0 : aucune coloration.

Coeff. 1 : cytoplasme à peine coloré, sans granulations visibles.

Coeff. 2 : quelques granulations sont présentes.

Coeff. 3 : cytoplasme brun foncé contenant de nombreuses granulations irrégulièrement disposées.

Coeff. 4 : granulations très nombreuses, confluentes, le cytoplasme apparaissant coloré en brun-noir.

On additionne les chiffres trouvés pour établir le score définitif. Chez le sujet normal, il se situe entre 20 et 80.

MISE EN EVIDENCE DES MYELOPEROXYDASES

La réaction de mise en évidence des peroxydases est assez ancienne. Il en existe, de plus, de nombreuses variantes (Hayhoe, Kaplow, Lison, Undritz).

Principe de la méthode.

Les peroxydases sont des enzymes d'importance capitale pour la vie de la cellule. Elles ont un rôle de transport d'oxygène sur un support oxydable. Elles agissent avec un coenzyme qui est une ferroporphyrine, non directement sur l'oxygène de l'air mais sur des péroxydes.

La réaction générale expliquant leur fonctionnement est la suivante :

$$\underset{\text{peroxyde}}{H_2O_2} + \underset{\substack{\text{substrat}\\\text{oxydable}}}{H_2R} \longrightarrow 2H_2O + \underset{\substack{\text{substrat}\\\text{oxydé.}}}{R}$$

Cette réaction devient réalisable sur des cellules contenant une peroxydase à condition que l'on apporte le peroxyde qui est représenté par de l'eau oxygénée et le substrat oxydable qui est représenté dans notre réaction par la Benzidine.
La Benzidine donne par oxydation un produit coloré. La coloration de fond étant donnée par le colorant nucléaire de Papamiltiades.

Technique.

Préparation des solutions :

Solution A : Benzidine ..... 5 g
Ethanol absolu ... 400 ml.

Cette solution, préparée au moins 24 à 48 heures avant la réaction, est conservée au réfrigérateur à + 4°. Au moment de l'emploi, elle est retirée du réfrigérateur. On réalise le mélange suivant :

Solution A ..... 130 ml.
Eau oxygénée à 110 vol... 1, 5 ml.
Eau d'Evian (à PH)...70 ml.

Ce mélange (solution B) est agité et porté à 37° à l'incubateur pendant 30 minutes.

Mise en route de la réaction :

1) Fixation dans un mélange.

Formol à 40 % ..... 160 ml.
Ethanol absolu ..... 840 ml.

pendant 60 secondes à la température du laboratoire.

2) Séchage à l'air - lavage à l'eau courante - nouveau séchage.

3) Mise en contact dans un bac incliné des lames et de la solution B pendant 75 secondes.

4) Séchage à l'air - lavage à l'eau courante lame par lame - séchage à l'air.

5) Coloration pendant 20 minutes au colorant nucléaire (hematoxyline au sulfate de zine) de Papamiltiades - lavage à l'eau courante - séchage.

Sureté.

Cette réaction présente toutes les garanties de sureté souhaitable à condition de respecter scrupuleusement les précautions nécessaires pour éviter l'auto-oxydation de la benzidine au contact de l'air. Cependant, des variations relativement importantes peuvent survenir et surtout, il arrive qu'elle ne donne pas de coloration spécifique pour des erreurs techniques minimes.

Dans l'étude de la lignée rouge, qui ne nous intéresse pas ici, on peut observer de fausses réactions positives avec un excès d'eau oxygénée (activité pseudo-peroxydasique de l'hémoglobine).
La réaction des myéloperoxydases apparaît donc comme une réaction délicate à réaliser.

Résultats.

L'activité peroxydasique se révèle par la présence de grains colorés en brun-orangé dans le cytoplasme.

- la série myéloïde est positive, de l'hémocytoblaste myélogène au polynucléaire neutrophile. Les granulations sont groupées en amas compacts.

- la série érythrocytaire, la lignée mégacaryocytaire sont négatives.

- dans la série histiomonocytaire, les monocytes sont quelquefois négatifs, quelquefois positifs mais faiblement avec des grains fins et dispersés dans le cytoplasme.

D'après Undritz (183) des frottis conservés six semaines avant la réaction seraient encore positifs aux peroxydases dans la série granuleuse.

Etablissement d'un score.

On établit ainsi le score des myéloperoxydases.

Coeff. 0 : pas de granulations.

Coeff. 1 : quelques granulations rares sur le cytoplasme.

Coeff. 2 : les granulations sont nombreuses, disséminées dans tout le cytoplasme, groupées en amas dans certaines zones.

Coeff. 3 : le cytoplasme est entièrement envahi par la coloration des peroxydases. Les granulations se projettent sur le noyau.

Le comptage se fait sur 100 cellules. Le nombre de cellules trouvées pour chaque coefficient est multiplié par le chiffre de ce coefficient.
Le score définitif est alors établi par addition et le chiffre considéré comme normal par la plupart des auteurs est de 170 à 200.

Tableau récapitulatif de la recherche des peroxydases.

Lignée granuleuse	positive du score 1 à 3
Lignée rouge	négative
Lignée mégacaryocytaire	négative
Lignée lymphoïde	négative
Lignée plasmocytaire	négative
Lignée histiomonocytaire	positive (score 0 à 1) pour certains monocytes.

REACTION AU P.A.S

La réaction au P.A.S. ("periodic-acid-Schiff-reaction") mise au point par Mac Manus Hotchkiss (111) est une réaction de groupe qui révèle des substances assez différentes : glycogène - mucopolysaccharides neutres et acides, mucoprotéines, glycoprotéines et lipopolysaccharides (Heckner).

Le principe de cette réaction est simple : après fixation des frottis par une solution alcoolique et formolée, un premier temps d'oxydation par l'acide périodique scinde les chaines carbonnées en tronçons dicarbonnés avec libération des groupements aldéhydes.
Dans un deuxième temps, le réactif de Schiff (solution sulfureuse incolore de fuschine) révèle les fragments dialdéhydes en donnant une coloration pourpre intense.
On pratique ensuite une coloration nucléaire avant la lecture des lames.

- Cette réaction est très sensible, intense, et permet de colorer 10 g de substance dans 100 mg de tissus (77).

- Sa sureté est idéale, cette réaction s'accomplissant automatiquement.

- Sa spécificité par contre est mauvaise (Percheron-Paquin)(135).

En effet, tous les mucopolysaccharides neutres sont positifs au P.A.S. (fibres de réticuline, membranes cellullaires, certaines sécrétions).

On peut améliorer la spécificité par certains artifices :

. blocage par acétylation des fragments dicarbonnés.
. blocage par les sels d'aniline des fonctions dialdéhyques libérées,
. test de digestion salivaire pour affirmer la présence de glycogène.

La technique que nous avons utilisée est la suivante :

TECHNIQUE ET CONDUITE DE LA REACTION.

1) Fixation des lames pendant 10 mn dans une solution
Alcool absolu - Formol :
Formol ..... 60 ml
Alcool absolu ..... 190 ml

Sécher - laver à l'eau du robinet - sécher.

2) Plonger les lames dans l'acide périodique pendant 1 H 30.
La solution à employer est la suivante :

Acide périodique ..... 25 g.
Eau distillée ..... 1500 ml.

Laver à l'eau du robinet - sécher.

3) Plonger les lames dans le réactif de Schiff pendant 2 heures.
Laver et sécher les lames.

4) Coloration nucléaire.
Plonger les lames pendant 30 minutes dans le colorant nucléaire de Papamiltiades.

Laver les lames et sécher.

RESULTATS - INTERPRETATION.

La positivité du P.A.S. se manifeste par la présence de fines granulations rouge pourpre, disposées en couronne ou en collerette dans le cytoplasme.

On peut aussi observer de grosses flaques irrégulières intra-cytoplasmiques ou encore une coloration diffuse en grains de poussière.

- dans la lignée granulocytaire :

Les polynucléaires neutrophiles sont très positifs. La teinte violacée parsemant le cytoplasme est évidente et intense.

- la lignée érythrocytaire est négative à l'exception de quelques érythroblastes (140).

- la lignée mégacaryocytaire est franchement positive.

- la lignée lymphoïde est en général négative mais on peut noter à son niveau, l'existence de quelques granulations cytoplasmiques périphériques

ou d'une coloration d'ensemble rosée :

les lymphoblastes, les lymphocytes des leucémies lymphoïdes chroniques sont, par contre, nettement positifs.

Il en est de même pour la série histiomonocytaire, faiblement positive chez les sujets normaux.

ETABLISSEMENT D'UN SCORE CYTOCHIMIQUE.

Nous avons établi un score pour les polynucléaires et un score pour les lymphocytes.

Polynucléaires.

Coeff. 0 : pas de granulations P.A.S. positives.

Coeff. 1 : granulations P.A.S. positives disséminées dans le cytoplasme, non confluentes.

Coeff. 2 : très nombreuses granulations, en partie confluentes envahissant la totalité du cytoplasme.

Lymphocytes.

Coeff. 0 : aucune coloration P.A.S. +

Coeff. 1 : discrète coloration P.A.S. + à la périphérie du cytoplasme.

Coeff. 2 : quelques granulations individualisées P.A.S. +.

Le score habituellement trouvé pour le P.A.S. dans les lymphocytes se situe entre 15 et 40.

ETUDE CYTOGENETIQUE

ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE

Elle a été réalisée à partir de cultures de leucocytes du sang circulant dérivée de la microtechnique de Grouchy

PRELEVEMENT ET MISE EN CULTURE :

Le sang est prélevé par ponction veineuse avec une tubulure siliconée stérile dans un flacon contenant de l'héparine desséchée. (100 UI pour 10 ml de sang).

10 à 12 gouttes de ce sang sont ajoutées à 20 ml de milieu de culture composé de :

. 15 ml de TC 199 de l'Institut Pasteur
. 5 ml de sérum AB
. 3 gouttes d'héparine
. 4 gouttes de phytohémagglutinine M
. 2 gouttes de phytohémagglutinine P.

Ce mélange est mis à l'étuve à 37° C pendant 72 H.

BLOCAGE :

Après ces délais, on bloque les mitoses en ajoutant dans les tubes 0,1 ml de solution de colchicine à 0,04 mg pour 100 ml d'eau dsitillée.

Les tubes sont alors remis à l'étuve à 37° C pendant 90 minutes. Ensuite, une centrifugation à 800 tours/mn pendant 10 minutes permet d'enlever le surnageant.

CHOC HYPOTONIQUE :

Au culot cellulaire ainsi recueilli, on ajoute une solution de citrate de sodium à 1 % qui va provoquer un choc hypotonique permettant de disperser les chromosomes à l'intérieur de la cellule. Ce traitement se fait à 37° C pendant 20 minutes.

FIXATION :

Après centrifugation des tubes à 800 tours/mn pendant 10 minutes, on enlève le surnageant. Les cellules sont fixées par du liquide de Carnoy contenant 1 volume d'acide acétique pour 3 volumes d'alcool absolu pendant 45 minutes à 4° C.

La suspension cellulaire est centrifugée à 800 tours mn pendant 10 minutes et le culot cellulaire est dilué dans 1 à 2 gouttes d'acide acétique à 45 %.

PREPARATION DES LAMES :

A l'aide d'une pipette Pasteur, on laisse tomber quelques gouttes sur les lames recouvertes d'un film d'eau glacée, la suspension va s'étaler et les lames seront séchées à la flamme.

Les préparations ainsi obtenues sont hydrolysées dans l'acide chlorhydrique normal à 60° C pendant 7 minutes. Elles seront ensuite rincées abondamment et colorées au Giemsa.

Après photographie des mitoses à l'objectif 100 à immersion, les chromosomes sont découpés et les caryotypes établis.

ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE :

La classification des chromosomes a été effectuée selon les principes de la convention de Denver (1960) et de Londres (1963). Nous en rappelons brièvement les principes et la méthode.

Principes de classement.

Les chromosomes sont classés par ordre de grandeur décroissante ; le plus grand porte le n° 1, le plus petit, le n° 22.
La reconnaissance de chaque chromosome est basée sur la longueur relative de ses bras et la position de son centromère.

A l'intérieur de chaque groupe, les chromosomes sont rangés par ordre de taille décroissante. Les chromosomes sexuels X et Y gardent leur appellation classique.

Les groupes de chromosomes.

L'intérêt de classer les chromosomes en 7 groupes différents réside en ce fait qu'un chromosome normal peut toujours être rapporté à un groupe donné.
Par contre, à l'intérieur d'un même groupe, peuvent survenir des difficultés de classement, en particulier, dans le groupe C. Envisageons brièvement ces différents groupes de chromosomes.

Groupe A (1 - 3) Grands chromosomes à centromère presque médian. Ils se distinguent très aisément. Ils comprennent les paires 1 à 3.

Groupe B (4 - 5) Grands chromosomes à centromère distal (chromosomes télocentriques).

Groupe C (6 - 12) Chromosomes de taille moyenne à centromère sub-médian. La 6e, 7e, 9e, et 11e paire sont les plus médiocentriques. La 8e, 10e et 12e sont plus télocentriques.

Le chromosome X ressemble au chromosome 6 mais il est un peu plus grand. C'est dans ce groupe que l'identification des paires chromosomiques entre elles est la plus difficile.

Groupe D (13 - 15) Chromosomes de taille moyenne à centromère presque terminal (chromosomes acrocentriques). La paire 13 porte des satellites qui sont plus petits sur le 14 et inexistants ou très réduits sur le 15.

Groupe E (16 - 18) Chromosomes de taille décroissante. Le 16 est médiocentrique, le 17 l'est moins, le 18 est télocentrique.

Groupe F (19 - 20) Petits chromosomes médiocentriques en forme de croix de St André.

Groupe G (21 - 22) Chromosomes acrocentriques de petite taille ; le 21 porte des satellites alors que le 22 n'en porte en principe pas.

Le chromosome Y leur ressemble mais il est un peu plus grand et ne présente aucun satellite. En outre, ses bras inférieurs sont caractéristiques, très parallèles l'un à l'autre.

Tels sont le principe et la méthode de classification.

Cette dernière reste entièrement sujette à l'entraînement de l'observateur qui classe ces chromosomes.
Ils peuvent changer d'aspect suivant leur plus ou moins grande spiralisation et la plus ou moins bonne qualité de l'image photographique.

Lejeune (179) proposa pour tourner cette difficulté d'établir 2 indices de mensuration : l'indice centromérique et la longueur relative des bras.
En fait, il est probable que l'aide de l'électronique (29) permettra prochainement une classification plus rapide et plus objective.

Mais elle ne remplacera pas, dans l'immédiat du moins, la pratique irremplaçable de la confrontation des données du caryotype, de l'étude clinique, et de l'étude biologique d'un sujet porteur d'une anomalie chromosomique.

A partir de l'étude systématique des caryotypes, des réactions cytochimiques leucocytaires, et en traitant les informations ainsi recueillies de la façon la plus rigoureuse possible, nous avons établi une confrontation de ces données dont nous allons dans un premier temps, envisager les résultats.

Nous adopterons le plan d'étude suivant :

Pour chaque réaction cytochimique, nous donnerons les résultats trouvés chez les sujets normaux témoins.

Nous verrons ensuite les scores cytochimiques des sujets atteints de trisomie 21, des sujets atteints de trisomie E ou D, des sujets atteints de syndrome de Turner et de Klinefelter, des parents de trisomiques 21 et des parents de Turner et de Klinefelter.

RESULTATS

LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE

I. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DES SUJETS TEMOINS.

Nous ne reviendrons pas sur le choix de la population témoin que nous avons discuté plus haut.
Rappelons simplement le rôle important joué par la P.A.L. au niveau du métabolisme phosphoglucidique cellulaire et de la formation d'A.T.P.

L'établissement du score de la P.A.L. (Kaplow) donne, pour la majorité des auteurs, des chiffres variant entre 20 et 80 avec une moyenne se situant autour de 40. (J.BERNARD et coll. 14 - 15).

. Variations physiologiques.

Il est classique de noter une élévation des P.A.L. au cours des infections, au cours de la grossesse.
Il est également classique de noter d'importantes modifications au cours de la prise de certaines drogues ou médicaments (Colchicine, corticothérapie, contraceptifs oraux, L.S.D.).
Nous reviendrons sur ce point.

. Taux et intervalle de confiance des P.A.L.

L'établissement de l'intervalle de confiance pour le score des P.A.L. à partir d'une population témoin nous a donné les résultats suivants :

- score minimum : 0
- score maximum : 90,4.

La moyenne est à 42,3, l'écart-type est de 24,5.
Pour les P.A.L., nous n'avons pas noté de variations en fonction du sexe.

II. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LA TRISOMIE 21.

L'élévation du taux des P.A.L. chez les sujets trisomiques 21 est connue depuis longtemps, grâce, en particulier, aux travaux de King et coll., Alter (1) en 1962, Bertolotti en 1965 (16), Brandt (23), Coburn (32).

Les taux trouvés par ces auteurs chez les trisomiques 21 de sexe masculin sont de 120 plus ou moins 40, ce qui les situe nettement au-dessus de la population témoin.

Les scores que nous avons trouvés sont tout à fait comparables à ceux de King. Notre moyenne est à 94,3 et l'écart type à 44,8.

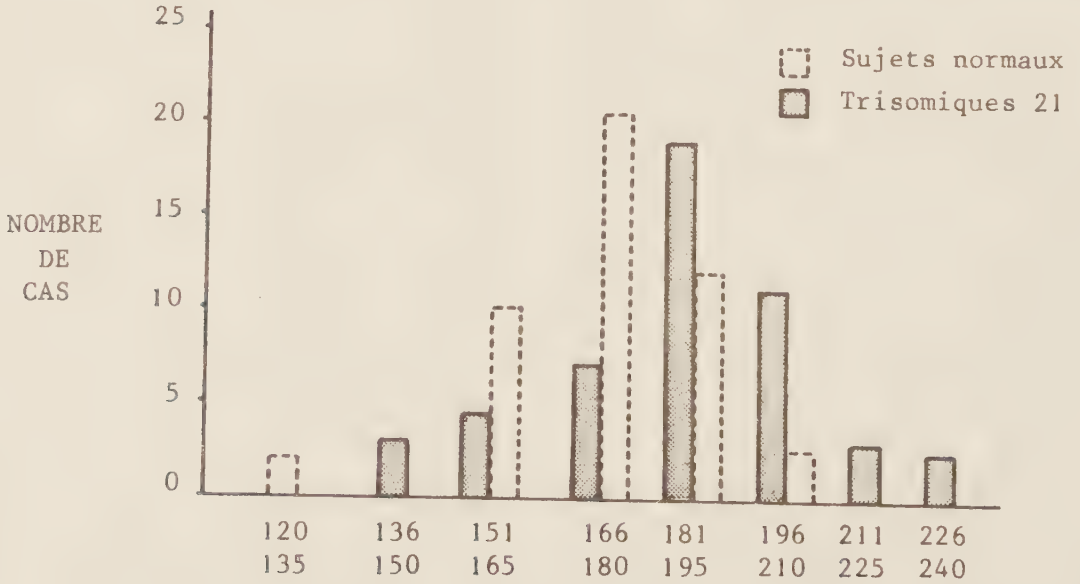
Nous avons résumé dans le tableau ci-dessous nos résultats :

	Score normal 0 à 90	Score augmenté de 100 à 210
Sujets trisomiques	4 cas*	32 cas

*dont 2 cas de translocation G-G (scores : 62 et 72).

Les 2 cas de trisomie libre à score P.A.L. normal posent le problème, soulevé par Beutler (17) de l'inactivation d'un chromosome 21.
Dans 1 cas de translocation G-D, par contre, nous avons trouvé un score élevé à 104.

PHOSPHATASES ALCALINES DES SUJETS NORMAUX ET TRISOMIQUES 21



(D'après Kontras)

Enfin, dans 2 cas de trisomie 21 en mosaïque, les P.A.L. avaient un taux proportionnel à l'importance du clone possédant 3 chromosomes G.

	Clone 3 x G	Score P.A.L.
Enfant FA	52 %	65
Enfant VI	94 %	153

L'image de deux populations différentes pour le score des P.A.L. a été bien mis en évidence par S.B. Kontras (94) sur 64 enfants trisomiques 21 comparés au même nombre de sujets témoins de même race et de même âge. La courbe construite à partir de scores établis par une méthode semi-quantitative différente de celle de Kaplow objective bien le décalage vers la droite des sujets trisomiques par rapport aux sujets témoins (schéma n° 4).

III. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LES AUTRES TRISOMIES AUTOSOMIQUES.

- trisomie 13.

Nous avons trouvé des scores à 103 et 104 pour nos 2 observations. Ces chiffres sortent de l'intervalle de confiance déterminé pour les P.A.L. et sont donc significativement augmentés.

- trisomie 18.

Les P.A.L. ont été étudiées dans 2 observations de trisomie 18 ; le score est élevé dans un cas (150) dans les limites de la normale mais au-dessus de la moyenne des sujets témoins dans l'autre (62).

Nadler (123) en 1966 rapporte 9 cas de trisomie 18 pour lesquels le score des P.A.L. est élevé de façon significative.

IV. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LE SYNDROME DE TURNER.

8 observations de syndrome de Turner XO ou en mosaïque ont été relevés dans notre série.
Le score d'ensemble que nous avons relevé se situe dans la zone normale.

2 malades s'écartent de cette zone : l'une est porteuse d'un syndrome de Turner XO. C'était une enfant de 3 mois 1/2 avec un score à 119, et elle n'avait aucune autre raison (infection entre autre) d'avoir une élévation des phosphatases alcalines.

L'autre observation concerne un syndrome de Turner en mosaïque XX/XO dont la population XO représentait 30 % des mitoses examinées. Son score était à 115.

Il ne semble donc pas qu'il soit possible d'établir une relation entre le taux des P.A.L. et le syndrome de Turner XO.

V. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LE SYNDROME DE KLINEFELTER.

Nous avons envisagé dans l'étude des P.A.L. 6 sujets atteints d'un syndrome de Klinefelter. Tous étaient porteurs d'un caryotype à 2n = 47,XXY.

Les scores trouvés sont tous dans les limites de la normale.
Un seul s'écarte nettement de ces valeurs. Il s'agit d'un sujet de 3 ans 1/2 porteur d'un syndrome clinique typique confirmé par le caryotype. L'existence d'un score à 141 n'est pas expliqué, d'autant qu'il n'existait, chez lui, aucune manifestation infectieuse.

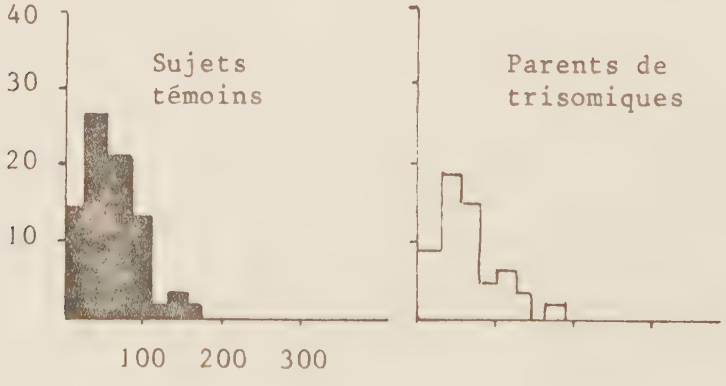
Il semble donc, en dépit du petit nombre d'observations que nous possédons, que le score des P.A.L. n'est pas influencé par un caryotype : 2n = 47,XXY.
Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux de Weber, Mittwoch et coll. (191) qui trouvent des taux plus élevés chez les sujets atteints de syndrome de Klinefelter.
Ces auteurs pensent que cette élévation pourrait être en rapport avec le nombre de lobes des noyaux des polynucléaires.

Il faut noter, cependant, que notre intervalle de confiance pour les P.A.L. est nettement plus large que celui utilisé par Weber et coll..

VI. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE CHEZ LES PARENTS DE SUJETS TRISOMIQUES 21.

En utilisant toujours la même population témoin, nous trouvons une légère différence entre les scores normaux et les parents de trisomiques.
La moyenne est à 49,3 et l'écart-type à 30,8.

D'autre part, l'histogramme construit à partir du nombre de sujets en fonction du taux trouvé montre un décalage à droite de l'image des parents de trisomiques par rapport aux sujets témoins.



Bien que cette différence ne soit que modeste, elle indique une "tendance", bien mise en évidence par l'histogramme, à un écart des taux moyens de P.A.L. des parents de trisomiques par rapport aux taux moyens témoins.

VII. LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE CHEZ LES PARENTS DE SUJETS ATTEINTS DE SYNDROME DE TURNER OU DE KLINEFELTER.

Nous n'avons pu retrouver et prélever simultanément que 14 parents.
Ces 14 parents représentent 7 couples dont 4 ont un enfant turnérien et 3, un enfant XXY.

Au moment du prélèvement, aucun des éléments de ces couples, à l'exception d'un seul, n'était en traitement par quelques médications que ce soit, aucun n'était porteur d'infection aiguë ou chronique.
Un seul individu, père d'une enfant XO, était en traitement par les vaso-dilatateurs coronariens et les tranquilisants pour un infarctus myocardique datant de 9 mois.

Nous avons trouvé, de façon générale, que souvent l'un des deux parents et quelquefois les deux, ont un score P.A.L. nettement élevé par rapport à la population témoin, ce score se situant très près de la limite supérieure de l'intervalle de confiance.

Cette augmentation du score des phosphatases alcalines leucocytaires n'est cependant pas retrouvée dans tous les couples, et une étude sur un plus grand nombre de sujets sera nécessaire pour pouvoir tirer des conclusions valables. Nous ne pouvons, ici, qu'indiquer une tendance.
Nous donnons ces résultats sous forme d'un tableau récapitulatif.

Ascendants de sujets XO	Score P.A.L.
1. père	82
mère	84
2. père	17
mère	84
3. père	53
mère	41
4. père	29
mère	20
Ascendants de sujets XXY	
1. père	59
mère	29
2. père	34
mère	82
3. père	21
mère	75

LA MYELOPEROXYDASE

I. LA MYELOPEROXYDASE CHEZ LES SUJETS TEMOINS NORMAUX.

- Choix de la population témoin.

La population témoin étudiée était constituée par des hommes et des femmes en bonne santé apparente.
Ils ont été retenus après contrôle systématique de leur hémogramme.
Les étalements sur lames ont été fixés et colorés le jour même du prélèvement pour éviter une altération éventuelle de l'enzyme.

Nous avons déjà indiqué la technique utilisée et le mode de lecture des frottis.

- Résultats.

Le score théorique de la M.P.O. peut varier de 0 à 300.
Nous avons calculé les limites d'un intervalle de confiance à partir des taux déterminés chez 82 sujets témoins. Nous savons que ceux-ci suivent une loi normale $N(\mu, \sigma)$ dont nous avons estimé la moyenne μ et l'écart-type σ

selon la formule :

ou la formule : $(\mu - 1,96, + 1,96\,\sigma)$ si $(\mu - 1,96) \geqslant 0$

ou $(0, \mu + 1,96\,\sigma)$ si $(\mu - 1,96\,\sigma) < 0$

Nous avons obtenu pour la M.P.O. un intervalle de confiance de 134,75 à 221,18 pour un risque de 5 %.
L'écart-type est de 22,07 et la moyenne est de 117,96.

- Variations physiologiques.

. Variations en fonction du stade de segmentation nucléaire.

L'intensité enzymatique moyenne que nous avons observée (coefficient 2) est la plus fréquemment retrouvée et correspond aux polynucléaires neutrophiles à 2 lobes ou 3 lobes.
Cette prédominance pour le coefficient 2 est indépendante du sexe du sujet étudié.

. Variations en fonction du sexe.

Si l'on compare les sujets de sexe masculin aux sujets de sexe féminin, on constate une différence nette de l'activité péroxydasique.
Le taux enzymatique et leucocytaire est plus élevé chez les femmes avec une valeur moyenne de 221,83 ± 5,50.
Chez les hommes, ce taux est plus bas, sa valeur moyenne étant de 195,37 ± 4,80.
Cette différence entre les deux populations est significative à 1 % d'après le test de Student.
On note, de temps en temps, quelques scores dont la valeur s'écarte considérablement de ces chiffres.
On peut considérer ces cas, rares (2 individus isolés), comme des accidents sans doute imputables à un défaut de prélèvement ou de technique.

Pour les hommes, les cellules à coefficient 1 et 3 sont presque à égalité.

Pour les femmes, les cellules riches en enzymes (coefficient 3) sont beaucoup plus nombreuses que celles qui correspondent au coefficient 1.

Ceci donne un profil enzymatique différent suivant le sexe lorsque l'on construit les histogrammes correspondants (schéma n° 1).

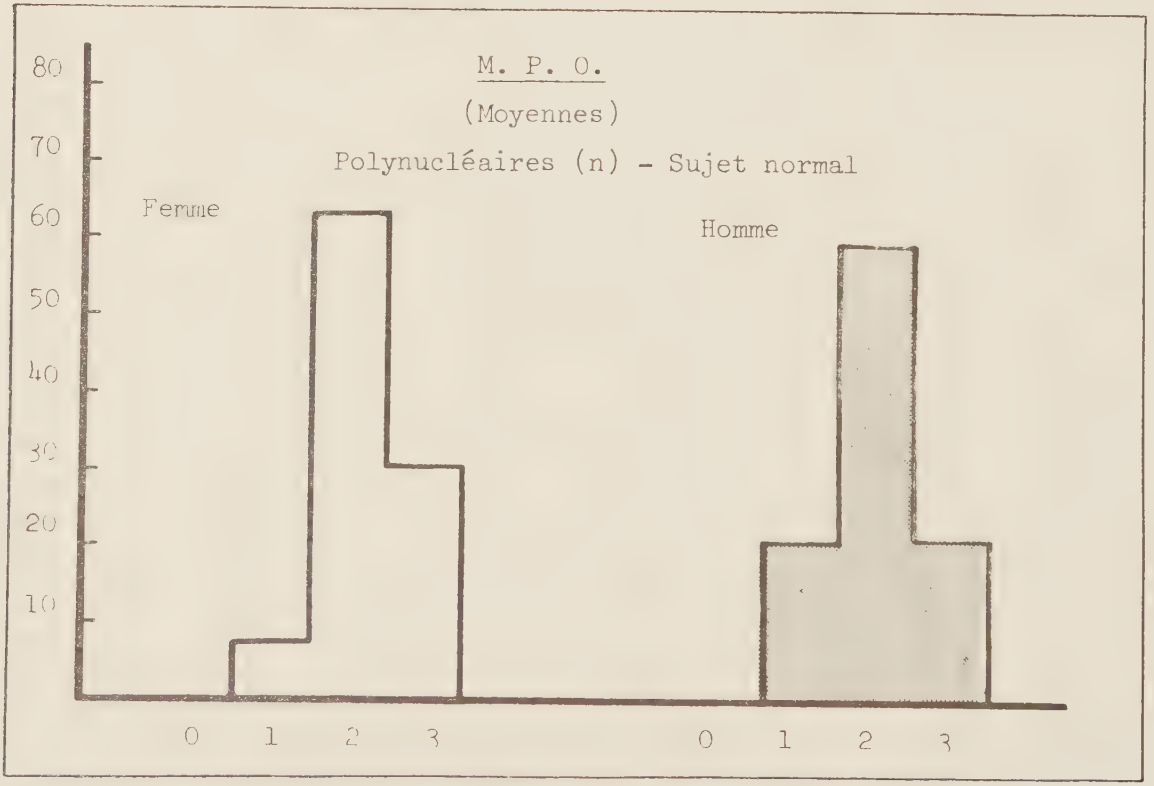

M. P. O.
(Moyennes)
Polynucléaires (n) - Sujet normal
Femme
Homme
80
70
60
50
40
30
20
10
0 1 2 3
0 1 2 3

Schéma n° 1.

Le nombre de polynucléaires neutrophiles dépourvus de myéloperoxydase représente pour les deux sexes 0,6 %.

Cette répartition quantitative différente et le profil enzymatique différent, en fonction du sexe, suggèrent un rôle des chromosomes sexuels dans le contrôle de l'enzyme. Nous reviendrons plus loin sur ce point.

. Variations en fonction du pourcentage de polynucléaires neutrophiles et eosinophiles.

Les chiffres du score moyen que nous avons donnés correspondent à des pourcentages de polynucléaires neutrophiles variant de 40 à 70 %.
Nous n'avons pas mis en évidence de variations du score enzymatique en fonction du pourcentage de polynucléaires eosinophiles ; ce pourcentage n'intervient donc pas dans la détermination du score enzymatique d'un sujet.

. Localisation de l'enzyme.

La localisation de l'enzyme semble se faire au niveau d'organites cellulaires distincts comme le suggère l'aspect granuleux en microscopie optique de la myéloperoxydase. Nous n'avons pas approfondi ce problème qui fera l'objet de travaux ultérieurs.

II. LA MYELOPEROXYDASE DES COUPLES TEMOINS NORMAUX.

La notion de couples témoins, telle que nous l'avons définie, dans le chapitre précédent, était intéressante à plus d'un titre.

Elle permettait, en particulier, de choisir des parents ayant déjà eu des enfants normaux et donc d'éliminer la cause d'erreur représentée dans une population témoin prise au hasard, par des individus célibataires susceptibles de mettre au monde des enfants porteur d'anomalies chromosomiques.

Ce risque était cependant faible, compte tenu de l'échantillonnage relativement réduit que nous possédions.
Les valeurs extrêmes retrouvées chez les couples témoins pour la myéloperoxydase sont de 128,5 pour le score le plus bas et de 218,9 pour le score le plus élevé.
La moyenne est à 173, l'écart-type est de 23.

Ces chiffres sont donc très proches de ceux que l'on trouve au niveau d'une population témoin normale prise au hasard.

III. LA MYELOPEROXYDASE DANS LA TRISOMIE 21.

Nous avons étudié la M.P.O. chez 79 petits trisomiques 21 dont l'âge variait de 20 jours à 13 ans.
La grande majorité de ces enfants ont entre 20 jours et 18 mois.

48 % des sujets trisomiques 21 ont un score enzymatique très abaissé, au-dessous de 150.

Nous avons rassemblé dans un même histogramme (schéma n°2), les sujets trisomiques et une population de 22 enfants normaux, nouveaux-nés ou âgés de quelques semaines.

On objective ainsi, de façon nette, la diminution d'ensemble du score M.P.O. de la population trisomique :
Les chiffres extrêmes trouvés sont de 60 à 80 pour les scores les plus bas et de 210 à 220 pour les scores les plus élevés.

IV. LA MYELOPEROXYDASE DANS LES AUTRES TRISOMIES AUTOSOMIQUES.

-trisomie 13.

Eu égard à la rareté de ce syndrome, il n'est pas surprenant que nous n'ayons pu en étudier que deux.

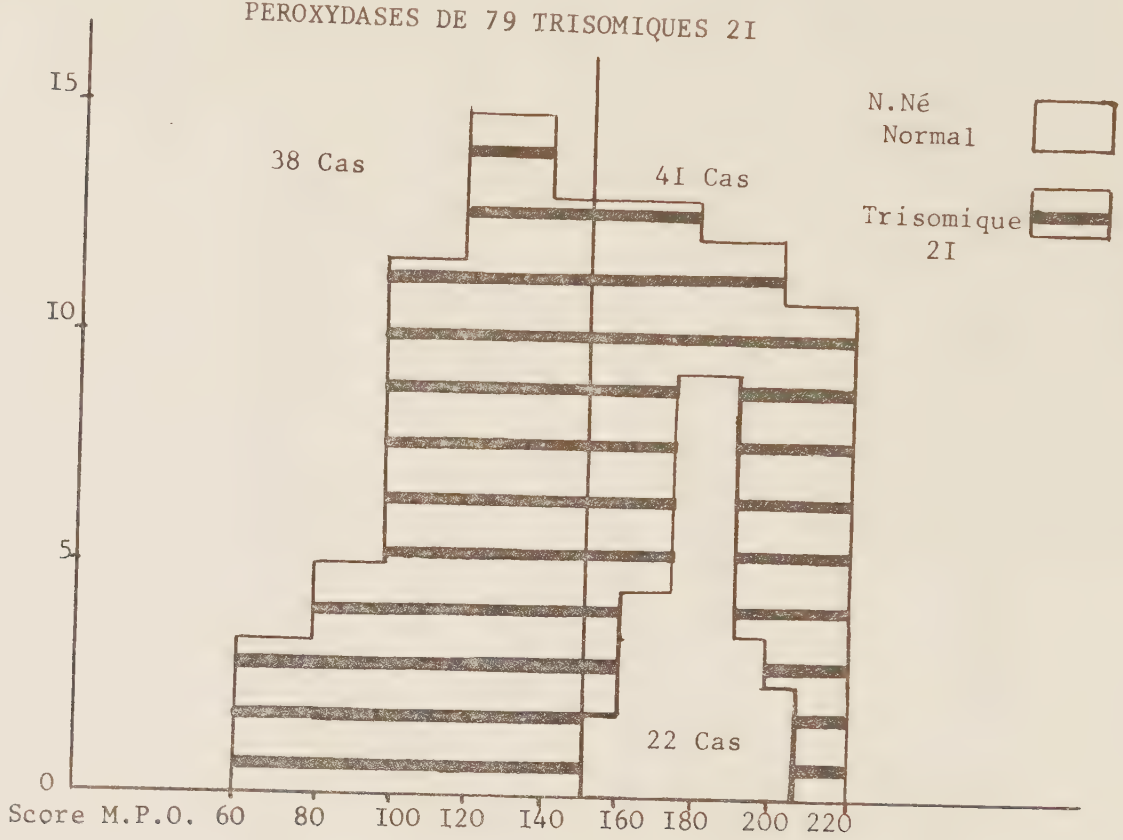

PEROXYDASES DE 79 TRISOMIQUES 2I
I5
I0
5
0
38 Cas
4I Cas
22 Cas
N.Né
Normal
Trisomique
2I
Score M.P.O. 60 80 I00 I20 I40 I60 I80 200 220

Schéma n° 2

Nous donnons les résultats, sans les commenter, sans en tirer les conclusions.
Nous n'avons pas relevé dans la littérature d'étude cytochimique d'enfants porteurs de trisomie D.

Score M.P.O. : 173 - 208.

- trisomie 18.

Nous manquons, ici aussi, d'un nombre suffisamment élevé d'observations, nous donnons donc simplement les résultats à titre indicatif :

. enfant AB ..... score M.P.O. : 101.
. enfant BR ..... score M.P.O. : 191.

Nous n'avons pas eu de réaction interprétable pour notre troisième malade atteint de trisomie E.

V. LA MYELOPEROXYDASE DANS LE SYNDROME DE TURNER (XO).

Nous avons étudié le score M.P.O. de 7 sujets dont le caryotype était à 2n = 45,XO.
Le taux des myéloperoxydases est en moyenne de 143,43 $\pm$ 5,60. Ce chiffre est nettement inférieur aux chiffres moyens rencontrés chez la femme témoin normale ou chez l'homme normal, qui, rappelons-le se situe à 195,37 $\pm$ 4,80.

Si l'on construit, à partir des scores M.P.O., des sujets XO, un histogramme afin de préciser le "profil" enzymatique, on s'aperçoit que dans la colonne 1 se trouve le plus grand nombre de cellules, dans la colonne 2, un nombre en règle inférieur ; il n'y a pas de cellules à coefficient 3 chez ces malades.

Le profil enzymatique typique du Turner par rapport à celui de l'homme et de la femme est représenté dans le schéma n° 3).

Nous avons relevé dans notre étude 4 syndromes de Turner en mosaïque.
Nous n'avons pas noté de parallélisme absolu entre le score des myéloperoxydases et l'importance de la population cellulaire à 2 chromosomes X.

Nous en résumons les résultats dans le tableau suivant, en confrontant ces chiffres, à un syndrome XO/XY, donc sans clone XX.

OBS.	Caryotype	% clone XX	C.S.	SCORE M.P.O.
1	XY/XO	0	2 %	136.
2	XX/XO	60	2 %	170.
3	XX/XO	20	3 %	190.
4	XO/XXr	40	5 %	172.
5	XX/XO	88	14 %	165.

VI. LA MYELOPEROXYDASE DANS LE SYNDROME DE KLINEFELTER (XXY).

Notre série comporte 8 sujets atteints de syndrome de Klinefelter, porteurs d'un caryotype à 2n = 47,XXY à l'exception de 2 sujets porteurs d'un caryotype à 48 chromosomes, XXYY.

Le taux moyen des myéloperoxydases pour les sujets XXY est de 214,6 ± 4,8.

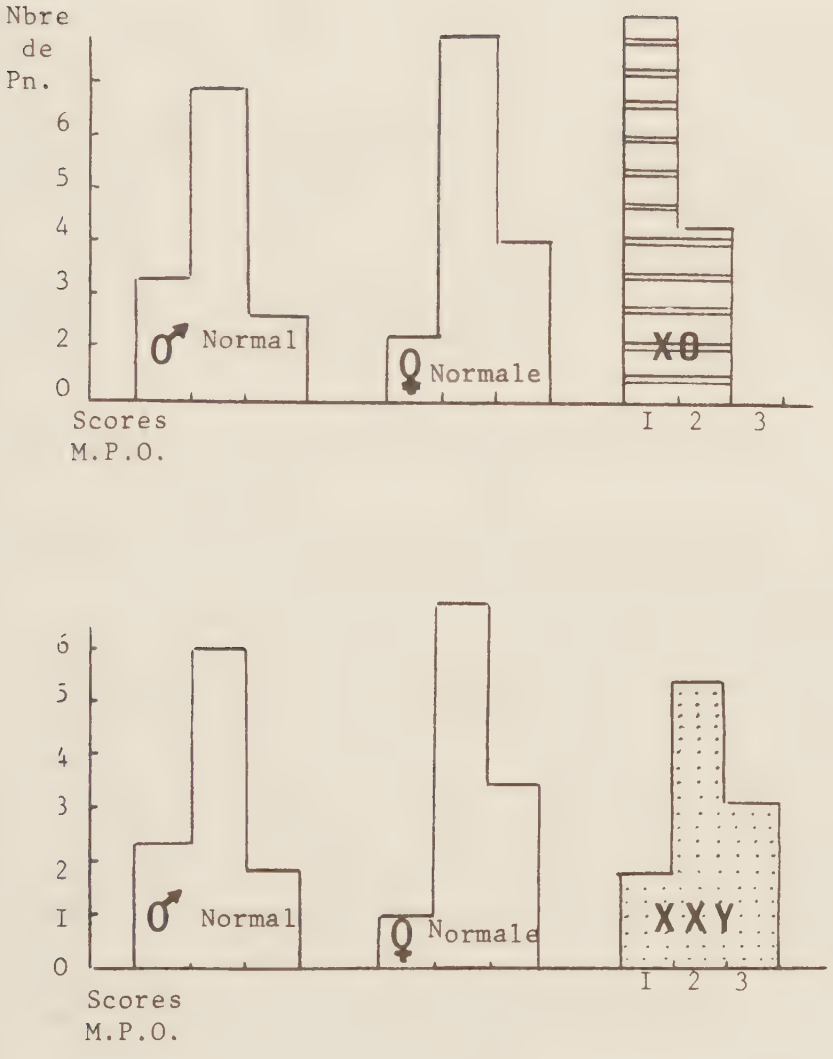

Nbre
de
Pn.
6
5
4
3
2
0
♂ Normal
♀ Normale
XO
Scores
M.P.O.
I 2 3
6
5
4
3
2
I
0
♂ Normal
♀ Normale
XXY
Scores
M.P.O.
I 2 3

Schéma n° 3.

Il est remarquable de noter que ces chiffres sont très proches de ceux d'une femme normale.

Les sujets XXYY ont un score myéloperoxydasique beaucoup plus bas. Dans notre première observation il était à 47 ; dans la deuxième à 105.

Le profil enzymatique du syndrome de Klinefelter XXY est assez caractéristique. L'histogramme est constitué par 3 colonnes :
La colonne 1 est la plus basse, la colonne 2 la plus élevée. La colonne correspondant au coefficient 3 est intermédiaire. L'allure du profil enzymatique est plus près de celui d'une femme que de celui d'un homme (schéma n°3).

VII. LA MYELOPEROXYDASE CHEZ LES PARENTS DE TRISOMIQUES 21.

Notre étude porte sur 74 parents de trisomiques 21 dont 33 couples, âgés de 20 à 40 ans, et 8 parents isolés, l'un des 2 conjoints n'ayant pu être prélevé.

Si l'on compare le taux de chaque couple à l'intervalle de confiance déterminé à partir de sujets normaux, on constate les distorsions suivantes :

- la majorité des parents de trisomiques 21 a un score M.P.O. abaissé par rapport à la population normale : la moyenne est à 157,2, l'écart-type à 39,7.

- cette diminution du score frappe les 2 parents 10 fois sur 24 couples.

Nous reprendrons plus loin ces résultats et les comparerons avec la population témoin normale.

VIII. LA MYELOPEROXYDASE CHEZ LES PARENTS DE SYNDROME DE TURNER ET DE SYNDROME DE KLINEFELTER.

Les scores de la myéloperoxydase de 14 parents représentant 4 couples pour les sujets XO et 3 couples pour les sujets XXY ne sont pas modifiés de façon significative. En effet, le taux trouvé pour les ascendants de syndrome de Turner est très voisin du taux de la population normale.

Pour les parents de sujets atteints de syndrome de Klinefelter, on a la surprise de trouver une inversion des taux de M.P.O., les hommes dans ces 3 couples ayant un score plus élevé que leurs femmes.

Parents de sujets XXY		Score M.P.O.
. couple 1.	Père	193
	Mère	106
. couple 2.	Père	184
	Mère	171
. couple 3.	Père	187
	Mère	179.

Nous nous garderons, cependant, d'en tirer une conclusion étant donné le petit nombre de sujets ainsi étudiés et la technique délicate de la réaction mettant en évidence la M.P.O.

LA REACTION AU P.A.S

La particularité de cette réaction est de donner une coloration parfaitement identifiable et très nettement visible au niveau des polynucléaires neutrophiles.

Mais elle est également positive au niveau des lymphocytes et nous donnerons, dans nos résultats, un premier score P.A.S. pour les polynucléaires et un deuxième score pour les lympnocytes.

Rappelons que cette réaction met en évidence un substrat qui est la résultante de toute une chaîne enzymatique glycolytique.

I. LE P.A.S. CHEZ LES SUJETS TEMOINS NORMAUX.

L'étude du P.A.S. chez les témoins objective les résultats suivants :

. au niveau des polynucléaires neutrophiles.

La moyenne trouvée est de 168,5 pour les individus normaux, avec un écart-type de 19,3.
L'étude de couples témoins permet de retomber sur les mêmes chiffres.

L'intervalle de confiance pour un risque de 5 % a pu être évalué à 130,6 pour le score le plus bas, 206,4 pour le score le plus élevé.

Nous considérons comme anormal tout chiffre n'entrant pas dans cet intervalle.

. au niveau des lymphocytes.

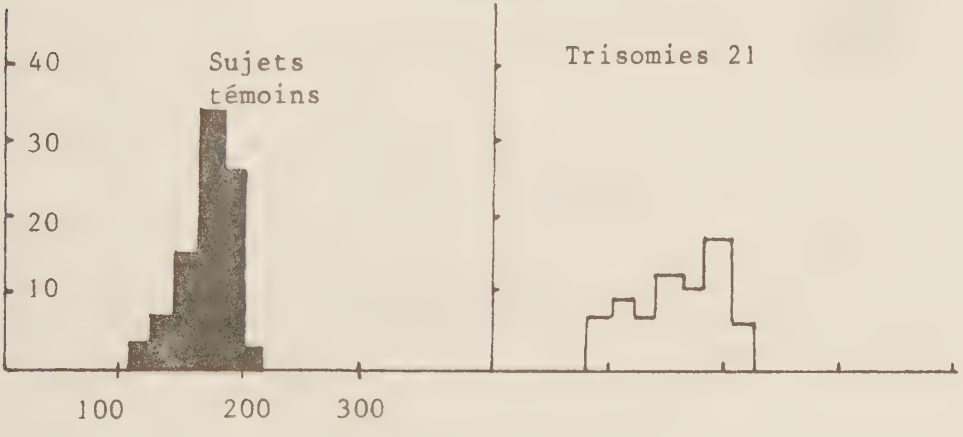
La moyenne trouvée est de 22,5.
L'écart-type est à 15,1. L'intervalle de confiance, toujours déterminé pour le même risque de 5 %, va de 0 à 51.
Cet intervalle apparaît élevé mais il n'est pas encore possible de le réduire de façon importante sans augmenter considérablement le risque d'erreur compte tenu du chiffre de notre population témoin.

II. LE P.A.S. DANS LA TRISOMIE 21.

52 enfants trisomiques 21 ont été étudiés.

. au niveau des polynucléaires neutrophiles.

La moyenne pour le score P.A.S. des polynucléaires est de 151,2 et l'écart-type est de 36,7.
La quantité de matériel P.A.S. + dans les polynucléaires neutrophiles des trisomiques ne semble donc pas augmentée.
Si l'on construit les histogramme correspondant à la répartition des scores suivant le nombre de sujets, on constate un écrasement de l'image obtenue avec une plus grande dispersion des chiffres par rapport à l'histogramme de la population témoin.



. au niveau des lymphocytes.

La différence trouvée par rapport à la population témoin est ici assez nette. La moyenne chez les sujets trisomiques est à 32,9 et l'écart-type est de 21.

On trouve donc une augmentation significative des scores et si l'on construit l'histogramme correspondant, on constate un décalage notable de l'image obtenue vers la droite par rapport à la population témoin.
23 enfants trisomiques sur 50 étudiés pour le P.A.S. présentent une élévation de leur score pour les lymphocytes.

III. LE P.A.S. DANS LES AUTRES TRISOMIES AUTOSOMIQUES.

-trisomie 13.

Les chiffres trouvés apparaissent légèrement diminués par rapport aux scores habituellement rencontrés chez les sujets témoins.

P.A.S. - Pn : 148 - 186
P.A.S. - L : 7. - 12.

- trisomie 18.

Dans nos 3 observations de trisomie 18, les résultats suivants ont été notés.

	P.A.S. - Pn	P.A.S. - L
Obs. 1.	187	53
Obs. 2.	191	30
Obs. 3.	160	27.

Ces scores ne sont nullement homogènes et nous n'en tirerons aucune conclusion.

IV. LE P.A.S. DANS LE SYNDROME DE TURNER.

Notre étude porte sur 9 sujets porteurs d'un syndrome de Turner dont 3 sont des turners en mosaïque.

. au niveau des polynucléaires neutrophiles.

Le score moyen que nous avons déterminé pour le P.A.S. est de 167,6, alors que le score des sujets témoins est à 168,3.
Une seule observation s'écarte de ces chiffres : le score est à 98 mais le caryotype est très différent d'un véritable Turner puisqu'il est fait à 35 % de cellules à 2n = 45,XO et à 65 % de cellules à 2n = 46,XY.

. au niveau des lymphocytes.

Le score moyen dans le syndrome de Turner est de 30,6 pour une population témoin à 22,5.

Il semble donc exister une tendance à l'accumulation de substrats P.A.S. + dans les lymphocytes des turnériens, quoique le nombre réduit de nos observations ne permette pas de l'affirmer.

V. LE P.A.S. DANS LE SYNDROME DE KLINEFELTER.

La réaction du P.A.S. pour les sujets atteints de syndrome de Klinefelter n'a pu être effectuée que sur 4 malades seulement.
Aussi, n'en donnons-nous le résultat qu'à titre purement indicatif.

OBSERVATIONS	CARYOTYPE	P.A.S. Pn.	P.A.S. L.
1.	XXY	105	34
2.	XXY	175	29
3.	XXY	173	19
4.	XXY	197	17.

VI. LE P.A.S. CHEZ LES PARENTS DE TRISOMIQUES 21.

. <u>au niveau des polynucléaires neutrophiles</u>.

Les chiffres moyens trouvés chez les parents de trisomiques sont peu différents de ceux des sujets témoins, ou du moins la différence n'est pas significative, compte tenu d'un écart-type qui est assez large.
Le chiffre moyen est de 145,2, l'écart-type est de 35,1.

. <u>au niveau des lymphocytes</u>.

La différence est ici plus nette que pour les polynucléaires.
Certes, l'écart entre les scores semble relativement peu important. La moyenne est à 32,9 contre 22,5 dans la population témoin.

Mais surtout l'allure de l'histogramme est, ici, assez particulière : elle est nettement déviée à droite avec un sommet notablement décalé traduisant l'élévation du score moyen.

Cette élévation du score P.A.S. au niveau des lymphocytes touche 21 parents sur 74.

VII. LE P.A.S. CHEZ LES PARENTS DE SUJETS ATTEINTS DE SYNDROME DE TURNER OU DE KLINEFELTER.

Au niveau des polynucléaires, comme au niveau des lymphocytes, on n'observe pas d'accumulation nette de matériel P.A.S. + chez les parents de sujets porteurs d'aberrations numériques au niveau des gonosomes.
Aucun des scores ne sort de l'intervalle de confiance déterminé pour cette réaction.

Nous donnons nos résultats dans le tableau ci-après.

SCORES :	P.A.S. Pn.	P.A.S. L.
PARENTS DE SUJETS XO		
1.	194	25
2.	199	42
3.	191	26
4.	187	22
5.	200	16
6.	198	24
7.	185	24
8.	199	22
PARENTS DE SUJETS XXY		
1.	189	15
2.	191	28
3.	197	32
4.	200	24
5.	190	33
6.	196	30.

SYNTHESE DES RESULTATS

Nous avons énuméré les différents résultats trouvés pour les trois réactions cytochimiques que nous avons étudiées.

Nous les reprenons, très brièvement et schématiquement, afin de mettre en lumière les modifications importantes pour chaque syndrome.

- TRISOMIE 21.

. l'aspect cytochimique de la trisomie 21 est essentiellement caractérisé par l'élévation des phosphatases alcalines leucocytaires. Nos résultats concordent avec ceux de différents auteurs (King - Alter - Valentine - Rosner).

. la myéloperoxydase est, en règle générale, diminuée de façon significative chez plus de la moitié des enfants trisomiques G.

. au niveau des lymphocytes, on observe également dans la moitié des cas, une augmentation du substrat P.A.S. +.

. les trisomies transloquées ont classiquement des scores cytochimiques normaux : nos résultats ne sont pas homogènes dans cette catégorie de patients.

- TRISOMIE D et E.

. le petit nombre de nos observations ne nous autorise pas à conclure. Nos résultats montrent des scores perturbés, essentiellement au niveau des phosphatases alcalines leucocytaires.

- SYNDROME DE TURNER - SYNDROME DE KLINEFELTER.

. Nous ne disposons dans ce groupe de malades que d'un nombre réduit d'observations. Nous pouvons donc, seulement, dégager certaines tendances.
La myéloperoxydase semble manifestement en relation avec le sexe génétique.
Le score M.P.O. est plus élevé pour les sujets XXY que pour les sujets XO.

- PARENTS DE TRISOMIQUES.

. l'élément essentiel est la diminution significative du score des myéloperoxydases qui touche, au moins, un des deux conjoints.

. l'élévation du score P.A.S. au niveau des lymphocytes est l'autre caractéristique des parents de trisomiques. Cette élévation n'est, cependant, pas aussi importante que chez les sujets trisomiques eux-mêmes.

- PARENTS DE SUJETS PORTEURS D'ANOMALIES DES GONOSOMES.

. dans ce groupe de parents également, le nombre d'observations est réduit. Il semble, cependant, se dégager une tendance à l'élévation du score des P.A.L. chez l'un des 2 conjoints, et quelquefois les deux.

. il semble, encore, exister des perturbations de la myéloperoxydase chez les parents de sujets XXY, mais nous ne pouvons l'affirmer, toujours en raison du petit nombre de couples étudiés.

DISCUSSION

Après avoir résumé succintement les points importants de notre étude, et souligné les résultats que nous considérons comme particulièrement intéressant, nous allons limiter nos commentaires à trois chapitres qui nous paraissent mériter une argumentation plus approfondie.

La comparaison de la population trisomique et de la population normale fait apparaître une augmentation de la phosphatase alcaline leucocytaire dans des proportions évoquant un effet de dosage génique.
Beaucoup d'auteurs se sont penchés sur ce problème, et ont étudié bien d'autres systèmes enzymatiques dans la trisomie 21.
Il nous a paru intéressant de reprendre certains de ces travaux, et d'envisager de façon plus précise le rôle du chromosome 21 et les gènes qu'il est susceptible de renfermer.

Nous nous pencherons donc tout d'abord sur les rapports du chromosome 21 et de certaines synthèses enzymatiques.

L'étude des populations témoins en fonction du sexe nous a montré des différences significatives entre hommes et femmes pour la myéloperoxydase.
L'étude des sujets atteints d'un syndrome de Klinefelter ou d'un syndrome de Turner, montre qu'il existe, là encore, en fonction du sexe génétique, des modifications des myéloperoxydases.
Cette enzyme est-elle sous la dépendance du chromosome X ?
Nous esaierons de répondre à cette question et, en envisageant les scores cytochimiques d'autres populations (testicules féminisants, sujets porteurs d'un double Y) d'en approcher le déterminisme génétique.

Nous discuterons donc dans un deuxième chapitre les rapports entre la myéloperoxydase et les gonosomes.

Toujours en comparant entre-elles les différentes populations étudiées, nous avons envisagé l'étude de parents normaux par rapport aux parents de trisomiques, et aux parents de sujets XXY et XO.

Pour certaines réactions cytochimiques apparaissent des différences significatives.
Ces perturbations enzymatiques qui précèdent l'accident chromosomique sont-elles un phénomène d'accompagnement, ou jouent-elles un rôle déterminant dans la malségrégation ?

Cette discussion fera l'objet de notre troisième chapitre : déséquilibre enzymatique et malségrégation chromosomique.

CHROMOSOME 21
ET
SYNTHESES ENZYMATIQUES

Les rapports entre le chromosome 21 ou plus exactement l'un des chromosomes du groupe G et la phosphatase alcaline leucocytaire ont été soupçonnés très tôt.

En 1951, Valentine et Beck avaient noté la diminution importante, significative des taux de la P.A.L. dans les leucémies myéloïdes chroniques.

En 1960, Nowell et Hungerford établissent l'existence au niveau du tissu hématopoïetique d'une délétion d'un chromosome du groupe G.
Cette délétion pouvait disparaître temporairement, pendant les périodes de rémission de la maladie, du sang périphérique.
Et l'on constatait alors une rémontée du taux des phosphatases alcalines leucocytaires.

Tanzer (171) analyse de façon précise le taux de la P.A.L. en fonction de l'évolution de la maladie, et en conclut que l'abaissement du score de Kaplow est tout à fait spécifique de la leucémie myéloïde chronique.
Lorsque les taux de la P.A.L. sont presque normaux ou normaux, il faut s'efforcer de rechercher une cause bien particulière à ce résultat :

Acutisation de la maladie, coexistence avec une infection, une grossesse, une goutte.
Même lorsqu'il n'existe pas de chromosome Ph_1 chez ces sujets,

le taux de la P.A.L. est effondré en dehors des cas que nous venons de citer.
Tanzer pose alors, sans le résoudre, le problème des rapports entre l'abaissement du taux de la P.A.L. et la délétion d'un chromosome G que représente le Ph_1.

Mais ces résultats et le rôle du chromosome 21 (ou 22) devaient très rapidement intéresser d'autres auteurs.

Certains avaient essayé de préciser le dosage de la P.A.L. par des méthodes biochimiques (Hayhoe et Quaglino).
D'autres auteurs mettaient au point un dosage fait sur globules blancs lavés (Haigh et Rossiter, Valentine et Beck).
On s'aperçut rapidement que ces dosages biochimiques donnaient des résultats à peu près parallèles à ceux de la cytochimie et du score de Kaplow (Tanzer. 172).

Forts de la valeur des méthodes cytochimiques et pensant à une relation directe entre les bras inférieurs du chromosome 21 et la P.A.L., plusieurs auteurs avaient supposé une augmentation de son taux dans la trisomie 21.

Rapidement, Alter et coll. en 1962 (1) ainsi que Trubowitz (181) par des méthodes biochimiques, Trubowitz, Lennox, King, la même année, et par des méthodes cytochimiques mettaient en évidence cette augmentation de la P.A.L.
Dès lors, tout devenait clair et il semblait irréfutable de situer le locus de synthèse de la P.A.L. au niveau des bras inférieurs du chromosome 21.
Ceci paraissait d'autant plus exact que la proportion dans laquelle la P.A.L. était augmentée, correspondait au dosage génique :
le rapport sujet trisomique - sujet normal était de 3/2.

Jérome ne manquait pas de souligner ce point dans une revue des effets biochimiques de certains chromosomes en 1964 (87).

Cette façon simple et commode de concevoir la synthèse de la phosphatase alcaline leucocytaire devait se heurter à un certain nombre d'objections.

- d'abord, l'on se rendit compte que la P.A.L. pouvait varier en fonction de facteurs extérieurs, sans relations avec les chromosomes du groupe G.

- ensuite, dans un certain nombre de cas, il n'y avait pas de concordance entre le taux de la P.A.L. et les anomalies chromosomiques constatées.

- le chromosome 21 apparut comme intervenant dans les variations du taux de nombreuses autres enzymes.

- enfin, certains auteurs ont mis en doute l'identité du chromosome 21 comme étant à la fois, le chromosome de la trisomie 21 et celui du Ph_1 dans la leucémie myéloïde chronique. Cependant, pour la commodité de notre exposé, nous continuerons à parler de chromosome 21, pour discuter ensuite du chromosome réellement intéressé par ces anomalies à l'intérieur du groupe G.

Nous examinerons successivement ces différents points.

- causes de variation de la P.A.L. en dehors des anomalies chromosomiques.

- discordances et concordances entre P.A.L. et chromosome 21.

- rôle du chromosome 21 dans d'autres processus enzymatiques.

- chromosome 21, trisomie 21 et chromosome Ph_1.

I. CAUSES DE VARIATION DE LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE EN DEHORS DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES.

Les variations de la P.A.L. sont fréquentes et connues depuis longtemps, mais elles sont importantes à connaître pour une interprétation exacte des modifications des taux que l'on peut rencontrer. En effet, certains états pathologiques, certaines thérapeutiques, peuvent influencer un taux de P.A.L. quelque soit son niveau de départ, chez des sujets normaux, porteurs de L.M.C. ou chez des sujets trisomiques 21.

Effet de certaines thérapeutiques.

L'augmentation du taux des P.A.L. après traitement par l'A.C.T.H., par les corticoïdes (Hydrocortisone, Prednisone) est connue depuis plusieurs années.

Dès 1957, Valentine et coll. (185) en font état.

Mac Coy (109-110) fit en 1966 une étude assez complète des modifications de cette enzyme sous l'influence des corticoïdes de synthèse.
Il traite par la Prednisone des sujets témoins normaux et des sujets trisomiques 21, et dose avant et en cours de traitement, les P.A.L. et la G_6PD qui, nous le savons, est contrôlée par le chromosome X.

Le taux des P.A.L. augmente considérablement chez les trisomiques 21 qui ont un taux de base plus élevé et augmentent de façon moins importante pour les sujets témoins.

La G_6PD s'élève de façon analogue pour les deux groupes étudiés.

Sammours (158) a montré que l'administration de contraceptifs oraux entrainait également une augmentation nette et significative du taux de la P.A.L.

Cette augmentation persiste deux à trois mois en moyenne après l'arrêt de la thérapeutique, le taux enzymatique revenant alors à la normale.
On peut rapprocher de cette augmentation, celle que l'on constate chez la femme enceinte.

Enfin, certaines drogues et tout particulièrement le L.S.D., entraînent des modifications notables des P.A.L..

Ruffié et coll.(156), Grozdea et coll. (66) ont administré, en quantité assez importante du L.S.D. 25 au Babouin Papio-papio. Ces auteurs constatent, à la suite de l'administration de cette drogue, une augmentation constante et très significative du taux des P.A.L. Parallèlement, pouvaient survenir des monstruosités nucléaires au niveau des lymphocytes stimulés par la P.H.A..

On peut rapprocher de cette action du L.S.D. l'action de la colchicine aux doses thérapeutiques usuelles sur le caryotype (Barrow, Bick et Ferreira).

Effet de certains états physiologiques ou pathologiques.

La grossesse, comme nous l'avons vue, entraîne une élévation du taux des phosphatases alcalines. Ce point fut d'abord noté par Climie (31). Diamant (36) devait démontrer par la suite que cette élévation était indépendante de la sécrétion placentaire de cette enzyme.

Les infections prolongées sont génératrices d'une élévation du taux des P.A.L. quelque soit l'état antérieur du sujet étudié, en particulier, qu'il soit porteur d'une trisomie 21 ou d'une leucémie myéloïde chronique.

On connaît la sensibilité, toute particulière, des trisomiques 21 aux infections et il faudra donc s'assurer avant d'avancer un chiffre chez eux, de l'absence de tout processus infectieux au moment du prélèvement.

La goutte enfin est connue pour élever le taux des phosphatases alcalines leucocytaires. Mais cette élévation est contestée par certains auteurs (Martinez-Maldonado en particulier).

Telles étaient les principales variations survenant en dehors d'hémopathies ou d'anomalies chromosomiques, qui intéressent le taux de la phosphatase alcaline leucocytaire.

Envisageons maintenant les problèmes posés par les relations entre le chromosome 21 et l'abaissement du taux de la phosphatase alcaline leucocytaire.

II. CONCORDANCES ET DISCORDANCES ENTRE LE TAUX DE LA P.A.L. ET LES ANOMALIES DU CHROMOSOME 21.

Nous avons vu que la diminution des P.A.L., dans la leucémie myéloïde chronique, s'accompagnait de la présence dans le caryotype d'un chromosome Ph_1.

Nous avons rapporté les travaux de plusieurs auteur (qui concordent avec nos résultats) qui permettent de conclur à une élévation constante de cette enzyme dans la trisomie 21

Nous avons noté que la proportion de ces variations était en faveur d'une théorie selon laquelle le chromosome 21 commanderait directement la synthèse des P.A.L.
Cette théorie simple (One gene-One enzyme. Hook. 80) se heurt cependant, à certaines difficultés.

Nous avons présenté un certain nombre d'observation faites par différents auteurs qui remettent notablement en cause cette théorie.

Berger (13) constate que la diminution de la P.A.L. quasi constante dans la L.M.C., ne s'accompagne pas toujours de la présence du chromosome Ph_1.

Celui-ci manque, dans 5 % des leucémies myéloïdes chroniques environ, dans 40 % des cas pour d'autres auteurs (Krauss).

D'autre part, cet auteur note que pendant les périodes de rémission, s'il disparaît du sang périphérique, il reste présent au niveau de la moelle osseuse.

Robinson a rapporté des observations de sujets indiscutablement atteints de leucémie myéloïde chronique et porteurs d'un Ph_1, possédant un taux de P.A.L. normal.

Jérome, en 1964, (87) note que le score des P.A.L. remonte à la normale ou presque au cours des périodes d'acutisation de la maladie lorsqu'apparaissent dans le clone cellulaire leucémique de nouvelles anomalies autosomiques par surnumération ne touchant pas les chromosomes G.

Mellman (117) affirme, par ailleurs, que la phosphatase alcaline ne peut absolument pas être considérée comme une enzyme commandée par le chromosome 21. Il note, en effet, que non seulement les P.A.L. mais encore les phosphatases acides leucocytaires, la G_1P.U.T., la G_6P.D. sont toutes augmentées chez les sujets trisomiques 21.
Or, la G_6P.D. n'est absolument pas dépendante du 21 mais du chromosome X.

Rosner, après avoir fait des cultures de fibroblastes, à partir de biopsies cutanées de sujets trisomiques 21, ne retrouve pas d'élévation de la phosphatase alcaline dans ses préparations alors qu'il retrouve l'existence de 3 chromosomes 21.

Ansley note que la P.A.L. apparaît quelquefois diminuée au cours de syndromes myéloprolifératifs autres que la L.M.C. sans qu'il existe pour autant de chromosome Ph_1.

La phosphatase alcaline leucocytaire reste assez souvent normale dans les leucémies myéloïdes chroniques à évolution rapide. On peut y opposer les observations de Reissman et Hardisty (144-72) qui montrent que la P.A.L. est fortement diminuée dans les formes particulières de L.M.C. touchant l'adolescent et ne s'accompagnant pas de chromosome Ph_1.

Ainsi, tous ces faits, étudiant la P.A.L. en fonction de l'anomalie chromosomique militent-ils contre la présence d'un cistron commandant la synthèse de cette enzyme sur le chromosome 21.

Cependant, et malgré toutes ces observations, demeurent la majorité des cas étudiés où l'on peut opposer de façon presque formelle les taux de la P.A.L. dans les leucémies myéloïdes chroniques et dans les trisomies 21.

Alter (1-2) pratiquant des dosages histochimiques sur 36 enfants trisomiques en bonne santé apparente, non infectés, et sur 36 enfants normaux témoins, trouve les résultats suivants :

- sujets trisomiques : 64 U. (en milligrammes de phosphore pour 10^{10} leucocytes/heure).

- sujets normaux : 24 U.

Lorsqu'il exprime ses résultats pour 10^{10} polynucléaires neutrophiles au lieu d'envisager la totalité des leucocytes, il trouve les chiffres suivants :

- sujets trisomiques 21 : 139 U.

- sujets normaux : 83 U.

Ce rapport est presque parfaitement égal à 3/2.
L'effet de dosage génique semble donc ici évident mais il est réfuté par d'autres auteurs, en particulier, Cox (34) qui, comme Rosner, ne trouve pas de modifications des P.A.L. sur culture de fibroblastes de sujets trisomiques 21.

Il a semblé possible, pour certains, (Hook. 80 et Engel) d'incriminer la jeunesse plus grande des polynucléaires des trisomiques dont rappelons-le, la formule d'Arneth est déviée à gauche.

En fait, les polynucléaires des trisomiques ont une granulopoïese et une diabase strictement comparables à celles des sujets normaux, comme l'a bien montré Galbraith (51).

Enfin, en dehors d'exceptions classiques, Bousser (22) souligne parfaitement qu'il existe une corrélation étroite entre le Ph_1 et la baisse des phosphatases alcalines leucocytaires.

D'autre part, Dicarli et coll. (37) sur une culture de tissu (souche hétéroploïde E.U.E.) observe sur des clones stables, isolés de la souche mère, une chute importante et brutale du taux de la phosphatase alcaline. Or, l'étude caryotypique de ces clones met en évidence une diminution du nombre des petits acrocentriques du groupe G dans les lignées dérivées de la souche mère (lignées sub 1 et sub 2).

Il devient donc évident, comme l'ont souligné dans diverses publications plusieurs auteurs et en particulier, Lejeune et Ruffié, que le chromosome 21 ou du moins un chromosome du groupe G porte un ou plusieurs locus contrôlant :

- la maturation et peut-être la diabase de certaines lignées.

- la synthèse ou la régulation de la phosphatase alcaline leucocytaire, mais en partie seulement, d'autres locus sur d'autres chromosomes intervenant également dans cette régulation.

Les explications que l'on peut donner lorsqu'il y a discordance entre le taux de la P.A.L. et le chromosome 21 sont nombreuses.
Mais deux faits apparaissent comme intéressants.

- Beutler (17) pense qu'il pourrait exister au niveau des chromosomes G un phénomène d'inactivation partielle ou totale comparable à ce qui se passe au niveau du chromosome X. Effectivement, les études autoradiographiques faites depuis, montrent, encore que cela ne soit pas définitivement établi, que dans le groupe G il n'y a pas de duplication simultanée des

chromosomes.

- Rosner (149) eut l'idée de comparer trois populations différentes :

. 12 sujets porteurs de trisomie transloquée
. 12 sujets porteurs de trisomie libre, de même âge et de même sexe
. une population équivalente de sujets témoins.

Pour chaque catégorie de sujets furent étudiées un certain nombre de constantes biologiques :

. calcémie, phosphorémie
. uricémie
. G_1P.U.T. leucocytaire, érythrocytaire, et du sang total
. P.A.L.
. phosphatases acides leucocytaires
. G_6P.D.
. 5 nucléotidase leucocytaire
. sérotonine.

Rosner trouve les résultats suivants :

calcium, phosphore, acide urique sont normaux dans les 3 catégories de sujets.
La sérotonine est diminuée dans les trisomies libres, presque normale dans les translocations.
Les phosphatases acides et surtout alcalines sont significativement plus élevées dans les trisomies libres alors que leur taux est sensiblement le même dans les trisomies transloquées et chez les sujets normaux.
Il en est, de même, pour la G_6P.D., pour la 5 nucléotidase leucocytaire et pour la G_1P.U.T.

Ces résultats sont particulièrement intéressants. Comme l'expose Rosner, il semble bien que l'on puisse en déduire les conclusions suivantes.

- le chromosome 21 joue un rôle indiscutable dans la production de la P.A.L.

- mais ce rôle n'est pas tenu uniquement par ce chromosome : il est probable qu'il ne représente qu'une partie de la régulation génique de cette enzyme et que d'autres locus sur d'autres chromosomes interviennent.

- les trisomies transloquées représentent de nouveaux rapports entre les locus chromosomiques.
La trisomie libre réalise un trouble de "l'homéostasie génique" (Rosner) et s'accompagne d'un certain nombre de modifications enzymatiques. La translocation rétablit en partie (par des phénomènes de répression génique ?) cette homéostasie au niveau de la production et du contrôle enzymatique.

- ainsi, peut-on concevoir le chromosome 21 comme porteur de gènes régulateurs pour certaines enzymes comme la P.A.L., d'autres gènes régulateurs pour d'autres enzymes plus directement contrôlées par d'autres chromosomes (X pour la G_6P.D.).

Le rôle du chromosome 21 apparaît ainsi prépondérant pour le déterminisme et la régulation de la P.A.L. Cette enzyme subit par contre l'action régulatrice d'autres chromosomes.

Cox (34) pense que le gène de structure de la P.A.L. ne serait pas situé sur un chromosome G.

Notons,de plus, qu'elle est sujette à des variations importantes et donc, soumise aux effets de l'environnement (infection, grossesse, thérapeutiques diverses).

En l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons aller plus loin dans l'analyse précise du cistron situé sur les bras inférieurs du chromosome 21 et qui règle en partie les phosphatases alcalines leucocytaires. Il est déjà important de pouvoir affirmer qu'il existe et représente un véritable marqueur du 21.

Comme le suggéraient les travaux de Rosner, le chromosome 21 n'a pas pour seul rôle enzymatique celui qui touche à la P.A.L..

Beaucoup d'autres processus enzymatiques semblent intéressés, sinon par le 21 lui-même, du moins par le surdosage génique du groupe G.
L'étude systématique de plusieurs systèmes enzymatiques au cours des trisomies 21 en fournit la preuve.

Nous allons donc en une rapide revue de la littérature envisager les modifications retrouvées au cours des trisomies et qui posent le problème d'un rôle plus étendu du chromosome 21.

III. ROLE DU CHROMOSOME 21 DANS D'AUTRES SYSTEMES ENZYMATIQUES

Nous allons envisager, dans ce chapitre, les travaux de différents auteurs. Nous parlerons du chromosome 21 étant bien entendu que nous sacrifions à la commodité et que nous discuterons plus loin le problème posé par l'identité du chromosome du groupe G intéressé par la trisomie 21 et le Ph_1.

Nous avons déjà envisagé les travaux de Rosner qui notent l'élévation de la galactose 1 phosphate uridyl transférase, de la glucose 6 phosphate déshydrogénase de la 5 nucléotidase leucocytaire et bien sûr des P.A.L. dans les trisomies 21.

Brandt (25-24), Kelly et Copeland (92) ont particulièrement travaillé sur l'élévation de la G_1P.U.T.

Brandt, qui, le premier en 1962 avait signalé l'élévation de cette enzyme du métabolisme glucidique, en compare le taux dans une série de sujets normaux, de sujets trisomiques 21, et d'hétérozygotes porteurs du gène de la galactosémie congénitale qui s'accompagne, comme on le sait, d'une absence de G_1P.U.T. chez les homozygotes.

Les résultats publiés sont les suivants :

- le taux de l'enzyme chez les hétérozygotes porteurs de la galactosémie est égal à la moitié du taux trouvé chez les sujets normaux, au tiers du taux constaté chez les trisomiques 21.

- l'effet de dosage génique, ici comme pour la P.A.L., semble évident.

Il est d'autant plus intéressant de remarquer chez un sujet trisomique rapporté par Brandt, un taux intermédiaire entre le taux des sujets galactosémiques hétérozygotes et le taux normal. Or, la mère de cet enfant était elle-même galactosémique à l'état hétérozygote.

Brandt conclut en évoquant l'existence d'un gène commandant la G_1P.U.T. sur le chromosome 21.

Les travaux de Brandt furent repris, en 1967, par Kelly qui arrive aux mêmes résultats et aux mêmes conclusions en comparant deux populations d'enfants, l'une trisomique 21, l'autre encéphalopathe sans anomalies caryotypiques.

Le chromosome 21 apparaît donc comme porteur d'un gène intervenant dans le contrôle de la G_1P.U.T., et probablement le siège d'une mutation, à ce niveau, dans certains types de galactosémie congénitale.

Baikie (5) a étudié la phospho-hexokinase érythrocytaire des sujets trisomiques 21 et trouve des taux plus élevés que chez les sujets normaux témoins.

Cependant, malgré cette différence significative, on ne peut affirmer la présence sur le 21 d'un gène intervenant dans la régulation de cette enzyme.
En effet, pour la phospho-hexokinase, il n'existe pas de délétion de l'un des chromosomes 21 pouvant permettre la mise en évidence d'un effet de dosage génique.

Sparkes (167), Pantélakis (131), et beaucoup d'autres auteurs (Neimann en 1965, Marks et coll. en 1966, Bender en 1967) ont entrepris une étude enzymologique systématique portant, à la fois, sur les leucocytes et les érythrocytes de sujets trisomiques 21 (trisomie libre et trisomie transloquée).

Il apparaît ainsi une augmentation nette de plusieurs enzymes (N.A.D.P.H. méthémoglobine réductase, 6 phosphogluconate déshydrogénase, G_6P.D., phospho-hexokinase ...) mais les seules augmentations importantes, de 40 à 60 % par rapport aux sujets témoins, et pouvant évoquer un effet de dosage génique, intéressaient la phospho-hexokinase, la 6 P.G.D. et la G_6.P.D.

L'augmentation de ces enzymes, pour les cellules de la lignée érythrocytaire, peut être diversement interprêtée.

- il peut s'agir d'un effet direct de la trisomie 21 apportant 3 gènes pour le contrpole d'un même enzyme mais des études plus larges seront nécessaires pour pouvoir l'affirmer (Bender).

- l'excès de matériel chromosomique, quelque soit le chromosome touché, pourrait entraîner des perturbations métaboliques majeures au niveau des cellules du sang, l'élévation des taux enzymatiques n'étant que le reflet de ces anomalies métaboliques plus profondes de toute une lignée cellulaire.

En fait, il n'est pas possible de répondre d'une façon définitive à ces questions, à l'heure actuelle, comme le soulignent en particulier, Baikie(5), Bartels, Nadler (122).

Si l'on peut conclure sur un rôle certain, mais encore à préciser, du chromosome 21 sur le déterminisme de la phosphatase alcaline leucocytaire, et de la galactose 1 phosphate uridyl transférase leucocytaire, il faut se contenter de constater l'élévation du taux de nombreuses autres enzymes au cours des trisomies 21 sans pour autant en tirer de déductions sur l'existence de gènes à ce niveau.

Cependant, une remarque s'impose, déjà formulée par Turpin et Lejeune (179), le chromosome 21 porteur de gènes intervenant dans le contrôle de certaines enzymes leucocytaires et peut-être érythrocytaires, semble jouer un rôle privilégié dans la régulation, au sens large du terme, de l'hématopoïese.

Chromosome touché dans la leucémie myéloïde chronique, chromosome en triple exemplaire dans la trisomie 21 où s'observent avec 20 fois plus de fréquence les leucoses aigües, sa fonction exacte n'est pas encore clairement définie. Du moins, peut-on en soupçonner l'importance.

Et pourtant, certains travaux récents posent un dernier problème délicat, celui de l'identité de ce chromosome que nous avons, par commodité, affecté du chiffre 21, qui est un chromosome du groupe G sans doute, mais dont on peut se demander s'il s'agit réellement du 21 ou du 22.

IV. CHROMOSOME 21 - TRISOMIE 21 - CHROMOSOME Ph_1.

Il est bien établit, à l'heure actuelle, que le chromosome qui, lorsqu'il est en triple exemplaire dans le caryotype de l'individu, entraîne les modifications phénotypiques du"mongolisme", est un chromosome du groupe G.

Il a toujours été considéré comme étant le chromosome 21, celui qui dans le groupe G était porteur de satellites parfaitement individualisés, plus nets que ceux de la paire 22, non obligatoires.

Le chromosome Ph_1, par délétion des bras inférieurs d'un chromosome du groupe G, était aussi porteur de satellites parfaitement visibles.
Dès lors, il semblait évident de considérer qu'il s'agissait dans les deux affections du même chromosome, qui portait dans la classification de Denver le n° 21.

Pour beaucoup d'auteurs, cette façon de voir est parfaitement établie et justifiée et correspond de plus aux variations des enzymes supposées être déterminées par ce chromosome. (Kamada 88).

Mais, Rudkin et coll. (151) rapportèrent en 1964 une observation particulièrement troublante.

Chez un malade atteint de leucémie myéloïde chronique existait un marqueur d'un chromosome G sous la forme de satellites géants.
C'est ce chromosome G qui se délète et donne un Ph_1 lorsque la malade fait une rechute de sa L.M.C.

Les études autoradiographiques montrent, par ailleurs, (Yunis et coll. 196 - Forteza Bover et coll. (49) - Uchida et coll. 182) que les chromosomes 21 ont une replication plus tardive que les deux 22.

Or, le chromosome à satellites géants décrit par Rudkin se replique tôt et serait donc un 22 et non un 21. Il n'y aurait donc pas identité entre les chromosomes de la trisomie 21 et le Ph_1.

En fait, le nombre d'études autoradiographiques chez les sujets trisomiques ne peut permettre de trancher ce point, à l'heure actuelle.
Il semblerait assez improbable qu'il y ait une différence d'identité entre ces deux chromosomes compte tenu du faisceau d'arguments biologiques et expérimentaux qui ont tendance à en faire un même chromosome.

Cette observation de Rudkin méritait, cependant, d'être rapportée dans le cadre de notre étude.
Il est logique de penser que le chromosome G en cause est le même dans les deux affections qu'on lui donne le n° 21 ou le n° 22 dans la classification de Denver. C'est à cet avis que se sont rangés la majorité des cytogénéticiens.

Ainsi, à partir de la phosphatase alcaline leucocytaire des sujets trisomiques 21, avons-nous été amenés à discuter le rôle exact et aussi l'identité du chromosome 21.

Il est assez remarquable de constater la multiplicité des problèmes que peut poser un petit acrocentrique, un des plus petits chromosomes du caryotype humain, un des plus intéressants à la fois pour l'hématologue et le cytogénéticien.

MYELOPEROXYDASES

ET

GONOSOMES

D'abord étudiée au cours des hémopathies malignes et en particulier des leucoses aiguës, (Graham et Knoll. 56 - Grozdea 62 - Hayhoe 75) les peroxydases leucocytaires ont fait l'objet de travaux portant sur leur déterminisme génétique.

Lorsque nous reprenons le résultat de notre étude portant sur des sujets sains témoins, des deux sexes et sur des sujets atteints d'anomalies portant sur les gonosomes, l'on se rend compte qu'il existe une différence qualitative et quantitative suivant la formule chromosomique.

Nous envisagerons, dans un premier chapitre, les différences existant entre l'homme et la femme, témoins. Puis, nous reprendrons les scores trouvés au cours des aberrations portant sur les gonosomes. Enfin, nous discuterons le contrôle éventuel des peroxydases par le chromosome X.

I. RAPPEL DES RESULTATS DU SCORE M.P.O. EN FONCTION DU SEXE CHEZ LES SUJETS TEMOINS.

Nous avons trouvé une différence significative, après une étude portant sur 51 sujets masculins et 50 sujets féminins, en fonction du sexe.
La moyenne était de 195,37 chez l'homme, contre 221,8 chez la femme. L'écart-type était de 4,80 chez l'homme et 5,50 chez la femme.

Le profil de l'histogramme construit après ces résultats était différent pour l'homme et la femme.

Dans le sexe féminin, la colonne correspondant au coefficient 3 était nette et supérieure à la colonne du coefficient 1. Pour le sexe masculain, le phénomène inverse était constaté (conf. schéma).

Il semble donc bien exister une différence quantitative et un profil enzymatique différent en fonction du sexe.

Cette différence, quoique significative, n'a pas l'importance qui pourrait correspondre à un effet de dosage génique.

Mais il faut toujours avoir présent à l'esprit, pour tout ce qui touche au chromosome X, la théorie d'inactivation de Lyon, que cette inactivation de l'X soit partielle ou totale.
En effet, les modifications biologiques et phénotypiques du surdosage génique réalisé par des caryotypes : XXX, XXXX, XXXXY, XXXXX, sont sans rapports avec la quantité de matériel chromosomique en excès.
Il faut donc accepter la théorie de Lyon où les variantes proposées par d'autres auteurs (cités par Turpin et Lejeune 174) et savoir raisonner avec prudence pour tout ce qui touche au chromosome X.

Un effet de dosage génique, tel que celui que l'on peut trouver pour la phosphatase alcaline leucocytaire, en fonction du chromosome 21, n'est pas à attendre pour la myéloperoxydase.

Envisageons maintenant comment évolue le taux de la myéloperoxydase en fonction du sexe lorsque l'on étudie des sujets porteurs d'anomalies touchant les gonosomes.

II. LA MYELOPEROXYDASE DANS LES ANOMALIES NUMERIQUES DES GONOSOMES.

Les sujets atteints de syndrome de Turner, que nous avons étudiés, sont au nombre de sept.
Le score global de la M.P.O. est significativement abaissé par rapport aux scores des sujets témoins puisqu'il se situe à 143,4.

Ce chiffre, particulièrement bas, est au-dessous de la moyenne trouvée chez les individus de sexe masculin, qui se situe à environ 190 ± 4.

Tous nos syndromes de Turner sont de formule chromosomique XO. Nous ne faisons pas intervenir, ici, les Turner en mosaïque dont nous avons parlé plus haut.

Le profil enzymatique trouvé est assez particulier : il correspond à une colonne 1 élevée, représentant 55 à 65 % des cellules et une colonne 2 représentant 35 à 45 % des cellules étudiées. La colonne 3 n'est pas représentée. (cf. schéma).

Les sujets atteints de syndrome de Klinefelter ont des scores, en général, hauts avec des chiffres moyens de 214,6. Ce chiffre correspond approximativement à ceux que l'on peut trouver chez une femme normale qui est de 221,8 ± 5,5.

Le profil enzymatique étudié sur un histogramme se rapproche d'ailleurs de celui que l'on trouve chez la femme témoin :
La colonne 2 est la plus importante, la colonne 1 et la colonne 3 sont représentées, la colonne 3 étant, d'une façon générale, plus importante que la colonne 1.

Si l'on compare sur un graphique, les différents histogrammes que nous avons construits, l'on observe une certaine ressemblance entre sujets femelles XX et sujets mâles XXY (Grozdea 61).

MYELOPEROXYDASES ET GONOSOMES

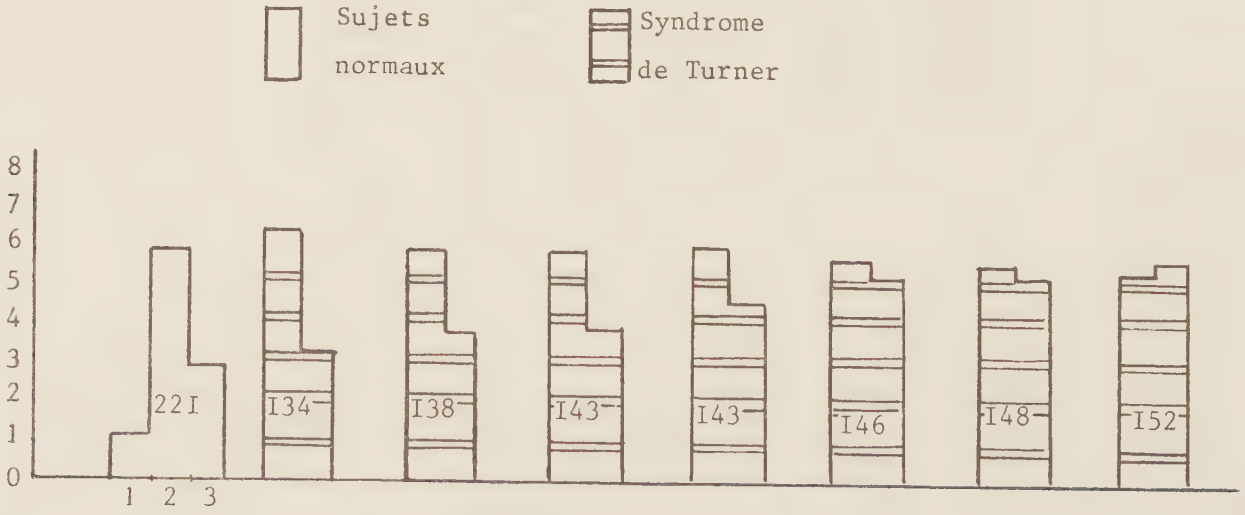


Schéma n° 4.

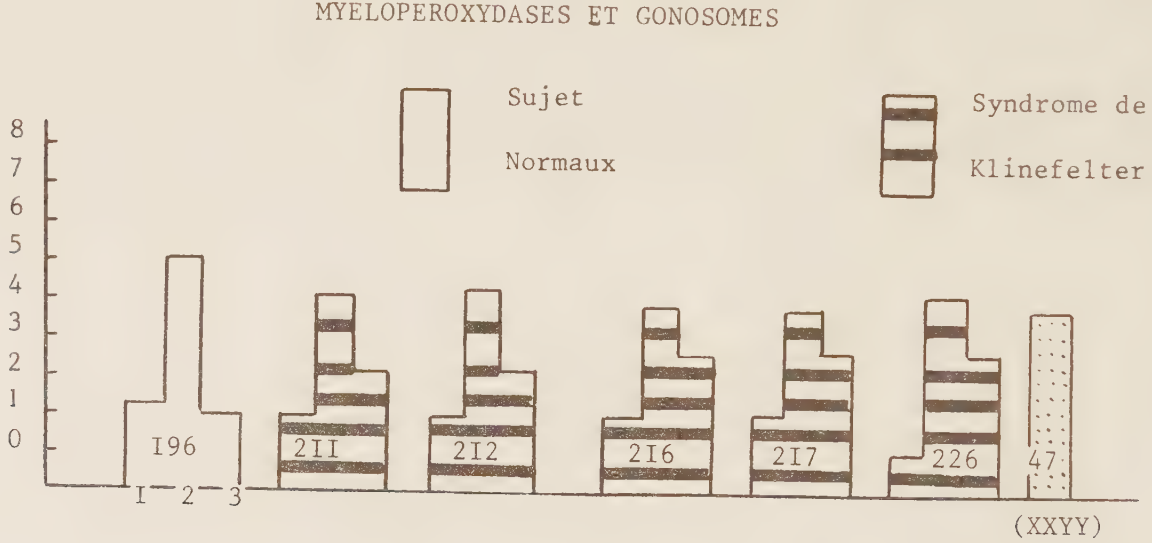

MYELOPEROXYDASES ET GONOSOMES
Sujet
Normaux
Syndrome de
Klinefelter
8
7
6
5
4
3
2
1
0
I96
I — 2 — 3
2I1
2I2
2I6
2I7
226
47
(XXYY)

Schéma n° 5.

Au contraire, il n'y a pas de ressemblance entre sujets mâles XY et sujets femelles XO, ni du point de vue quantitatif, ni du point de vue du profil enzymatique.

Il semblait donc bien réel, les différences observées étant statistiquement significatives, entre homme et femme, que l'on puisse en déduire non pas que la myéloperoxydase était liée ou commandée par le chromosome X, mais au moins, qu'elle était en relation avec le sexe chromosomique de l'individu.

Nous avons pu, récemment, reprendre l'étude cytochimique de la myéloperoxydase chez des sujets de sexe féminin et de caryotype XY, porteurs d'un testicule féminisant.

Sept malades ont été étudiés et le score M.P.O. a été calculé sur 200 polynucléaires. Les résultats trouvés varient de 145 à 190.
L'histogramme correspondant est un histogramme à deux colonnes, la plus haute correspondant au coefficient 2, la plus basse au coefficient 1.
L'image ainsi obtenue est curieusement l'image en "miroir" du syndrome de Turner.
Le taux moyen du score M.P.O. touche à la limite inférieure de celui de l'homme normal.
Il n'y a pas de ressemblance, non plus, avec le syndrome de Klinefelter.

Ainsi, apparaît une relation entre sexe génétique et score de la myéloperoxydase.
Mais est-il possible, comme nous l'avons discuté plus haut, à propos des chromosomes du groupe G et de la phosphatase alcaline leucocytaire, de trouver pour la M.P.O. une relation avec le chromosome X.

III. MYELOPEROXYDASE ET CHROMOSOMES SEXUELS.

Une relation simple et directe, comme par exemple le contrôle de la $G_6P.D.$ par le chromosome X, ne peut être envisagée nous semble-t-il pour la myéloperoxydase.

Certains auteurs ont essayé de confronter les taux de la M.P.O. avec les marqueurs génétiques du chromosome X.

Grozdea et coll. (64) signalent un taux significativement bas de la myéloperoxydase (moyenne à 109) chez 32 sujets hémophiles, et chez leurs mères (taux moyen : 112).

Mais, l'étude comparative du taux du facteur VIII et du score M.P.O. chez des femmes conductrices et non conductrices, ne devait montrer aucune corrélation.

Rappelons, en outre, contre la théorie d'une relation simple gène-enzyme au niveau du chromosome X et de la myéloperoxydase, que les taux trouvés chez nos sujets porteurs de syndrome de Turner en mosaïque, ne sont pas en rapport avec l'importance du clone normal à deux chromosomes X.

Par contre, une relation plus complexe avec les chromosomes sexuels pourrait être évoquée.

En effet, si l'on compare les scores trouvés dans différentes formules chromosomiques, il est possible de faire les constatations suivantes :

- le taux des sujets XXY est très proche mais légèrement inférieur en moyenne à celui des sujets XX.

- le taux des sujets XO est plus bas que celui des sujets XY.

- le taux des sujets porteurs de testicule féminisant (XY) est situé près des taux de l'homme normal, différent de celui des sujets XO et des sujets XXY.

- les sujets porteurs d'un double Y ont un taux de M.P.O. particulièrement bas.

Les variations, en fonction du sexe génétique, apparaissent donc en rapport avec le nombre relatif de chromosomes X et Y, comme si ces deux chromosomes intervenaient dans la régulation de la myéloperoxydase.

Les travaux de Noël et coll. (126) donnent quelques éclaircissements à ce sujet.

Noël, en effet, compare le taux des myéloperoxydases de sujets sains adultes, hommes et femmes, d'enfants mâles, de nouveaux-nés mâles, et de 10 sujets de formule chromosomique XYY.
Il utilise pour l'étude de cette enzyme 3 techniques cytochimiques différentes afin de limiter les risques d'erreur.

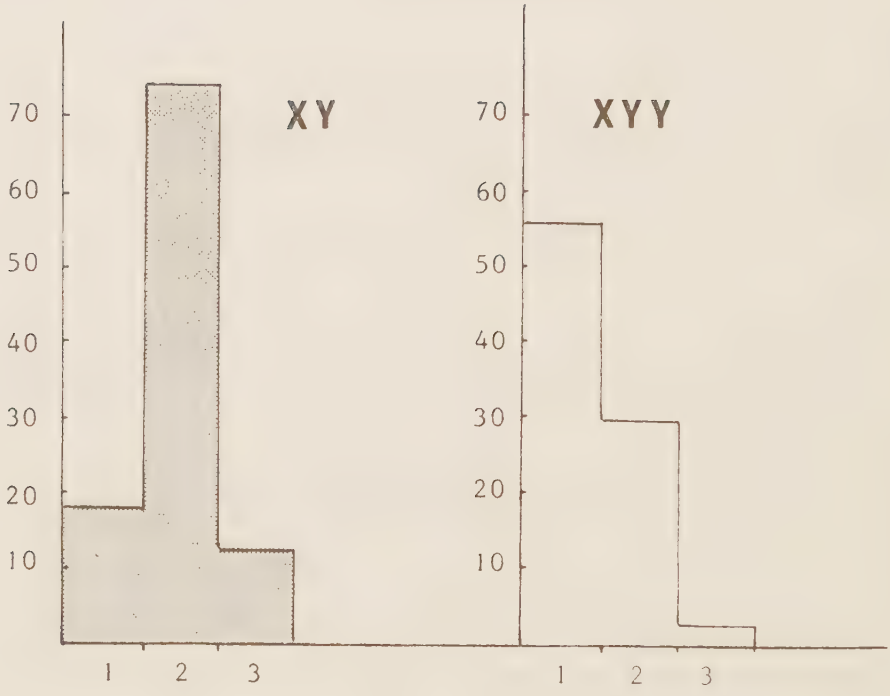
Les taux moyens trouvés sont de :

- 215 pour les femmes adultes XX

- 194 pour les hommes adultes XY

- 115 pour les sujets adultes XYY.

L'allure de l'histogramme des sujets porteurs d'un double Y est caractéristique, différente de celle de l'homme normal, avec une grande colonne 1, une colonne 2 plus réduite et une colonne 3 presque inexistante. (cf. schéma).



Les conclusions émises par cet auteur sont les suivantes :

- le chiffre moyen des myéloperoxydases est significativement différent chez l'homme et la femme normaux.

- le taux des myéloperoxydases est fortement diminué chez les sujets porteurs d'un caryotype 47,XYY.

Enfin, il formule l'hypothèse suivante quant à la régulation chromosomique de la myéloperoxydase :

- on sait que l'X inactivé et l'Y ont une replication tardive de leur A.D.N.. Mais cette inactivation pourrait être partielle.

- entre X et Y, pourrait exister une portion homologue chargée de la synthèse de la myéloperoxydase.

- mais Y pourrait également porter un gène répresseur pour cette enzyme qui agirait lorsqu'il se trouve en double dose dans un caryotype 47,XYY.

Ainsi, pourraient s'expliquer les différences observées entre sujets XO - XY, XX et XXY, XYY.

Cependant, Noël conclut avec une grande prudence, précisant qu'un grand nombre d'observations est nécessaire pour confirmer cette hypothèse, précisant également que la myéloperoxydase peut se trouver abaissée dans d'autres affections autosomiques structurales (Dp + par exemple).

Nous ajouterons que la réaction de la M.P.O. telle que nous la pratiquons, est d'une technique difficile et délicate, susceptible de variations en fonction de la préparation des réactifs, du pH, de la température ambiante, nécessitant un lecteur entraîné et utilisant, de façon très stricte, les mêmes critères de cotation.

Il semble donc que l'on ne puisse conclure, avec certitude, sur le rôle du chromosome X dans le contrôle génétique de la myéloperoxydase.
Il existe, sans doute, des variations en fonction du sexe génétique, mais il est probable que les chromosomes X et Y et peut-être aussi certains autosomes, interviennent dans une régulation complexe, polygénique, comme cela semble le cas pour la plupart des systèmes enzymatiques.

DESEQUILIBRE ENZYMATIQUE

ET

MALSEGREGATION CHROMOSOMIQUE

Le dernier point que nous aborderons au cours de ce travail est celui du rôle éventuel d'un déficit ou d'une perturbation plus générale des enzymes cellulaires énergétiques dans une malségrégation chromosomique.

Nous avons été amenés à formuler cette hypothèse lorsque nous avons comparé entre elles les différentes populations étudiées.
En particulier, nous avons noté certains résultats troublants chez les parents des sujets atteints de malségrégation chromosomique congénitale.

Il semble bien que les perturbations enzymatiques que l'on trouve chez les parents d'enfants porteurs d'aberrations chromosomiques numériques soient le fait d'au moins l'un des deux conjoints.

Nous verrons, d'autre part, que les anomalies enzymatiques croissent lorsque l'on passe de la population témoin à la population des parents de trisomiques, et de cette dernière à la population trisomique elle-même.

Bien entendu, il n'est pas encore possible de prouver le rôle néfaste du défaut enzymatique sur la mal-disjonction chromosomique. Mais, nous apporterons dans cette étude. un faisceau d'arguments et de constatations qui peut évoquer un mécanisme de ce type, ou du moins, montrer qu'il est possible.

Envisageons dans un premier chapitre les parents de trisomiques 21, et leur comparaison avec la population témoin.

I. CYTOCHIMIE LEUCOCYTAIRE DES PARENTS DE SUJETS TRISOMIQUES.

L'enzyme la plus touchée, de façon évidente, est la myéloperoxydase.

Nous avons étudié la M.P.O. chez 74 parents trisomiques 21 dont 33 couples. Nous avons obtenu un score moyen de 157,2, l'écart-type étant de 39,7.

La population témoin, hommes et femmes, nous donne pour 185 sujets étudiés, les chiffres suivants :

- moyenne du score M.P.O. : 177,9
- écart-type : 22,04.
- limites de l'intervalle de confiance : 134 à 221.

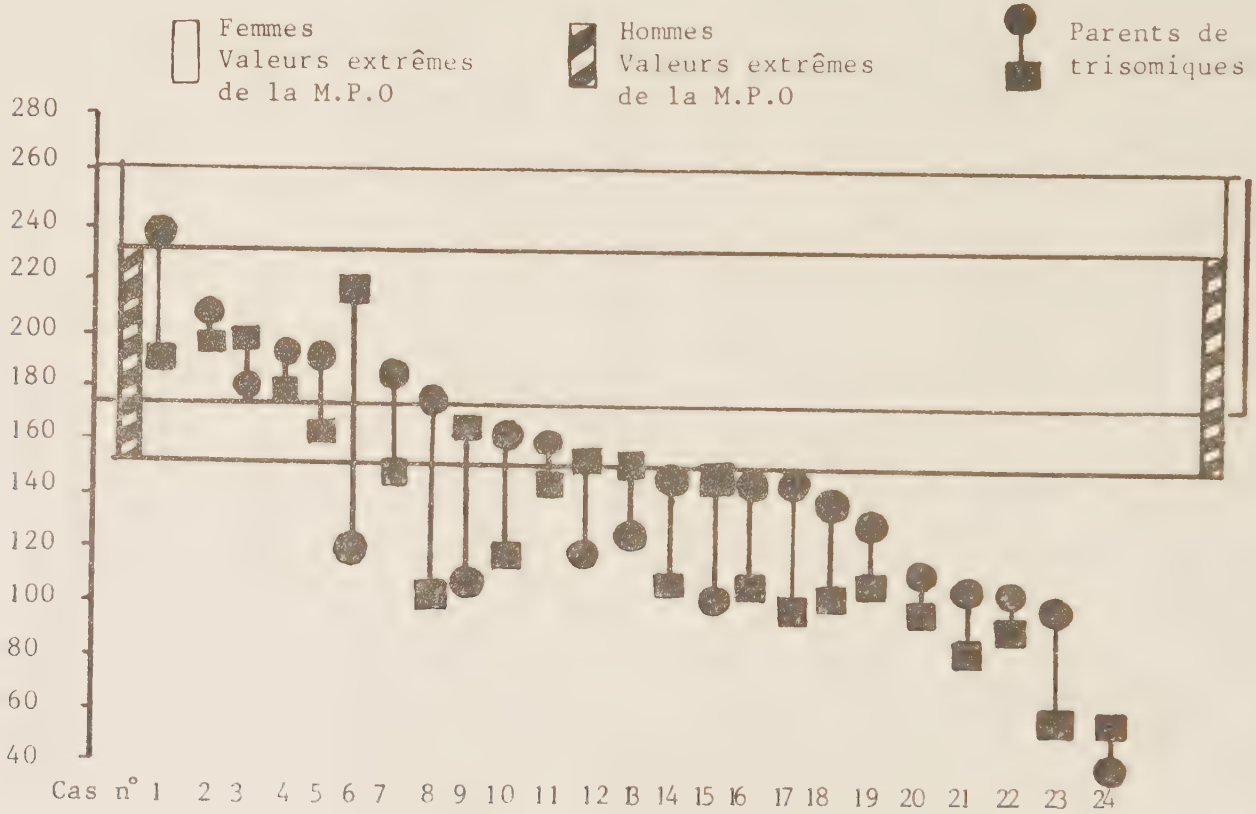
Si l'on reprend l'étude des parents de sujets trisomiques 21, en les étudiant par couples, en notant le score de chacun des deux conjoints et en le confrontant à l'intervalle de confiance que nous avons établi, nous trouvons, dans la grande majorité des cas, que l'un des deux parents au moins et bien souvent les deux, ont un score qui se situe nettement au-dessous de ces valeurs.

Nous représentons sur un graphique le score des myéloperoxydases de 24 parents de trisomiques que nous avons pu prélever simultanément (6).

La diminution des taux des M.P.O. est toujours aussi nette lorsque l'on compare population témoin et parents de trisomiques de même sexe.
L'étude comparative des scores M.P.O entre femmes normales et mères de trisomiques, sous forme d'histogramme, montre qu'il existe, non seulement, une diminution globale du taux de l'en-

Schéma n° 6.

MYELOPEROXYDASES ET PARENTS DE TRISOMIQUES 21



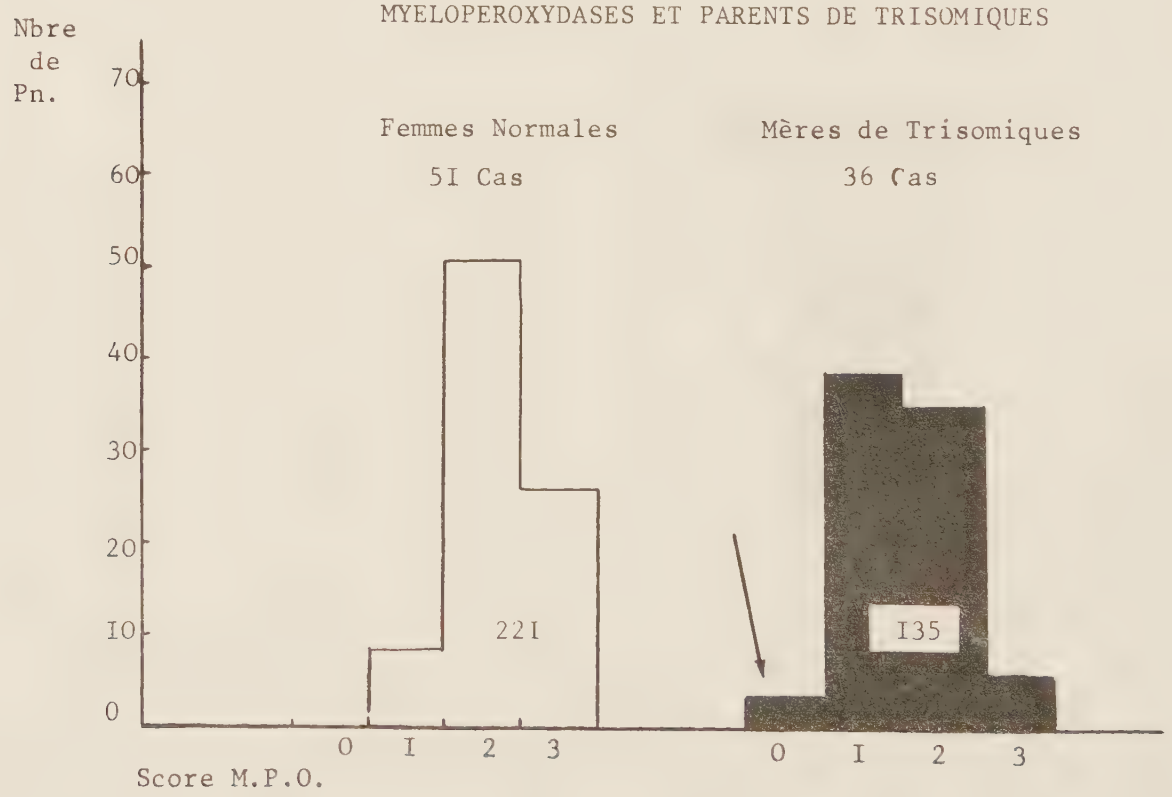

MYELOPEROXYDASES ET PARENTS DE TRISOMIQUES
Nbre de Pn.
70
60
50
40
30
20
10
0
Femmes Normales
51 Cas
Mères de Trisomiques
36 Cas
221
135
0 I 2 3
0 I 2 3
Score M.P.O.

Schéma n° 7.

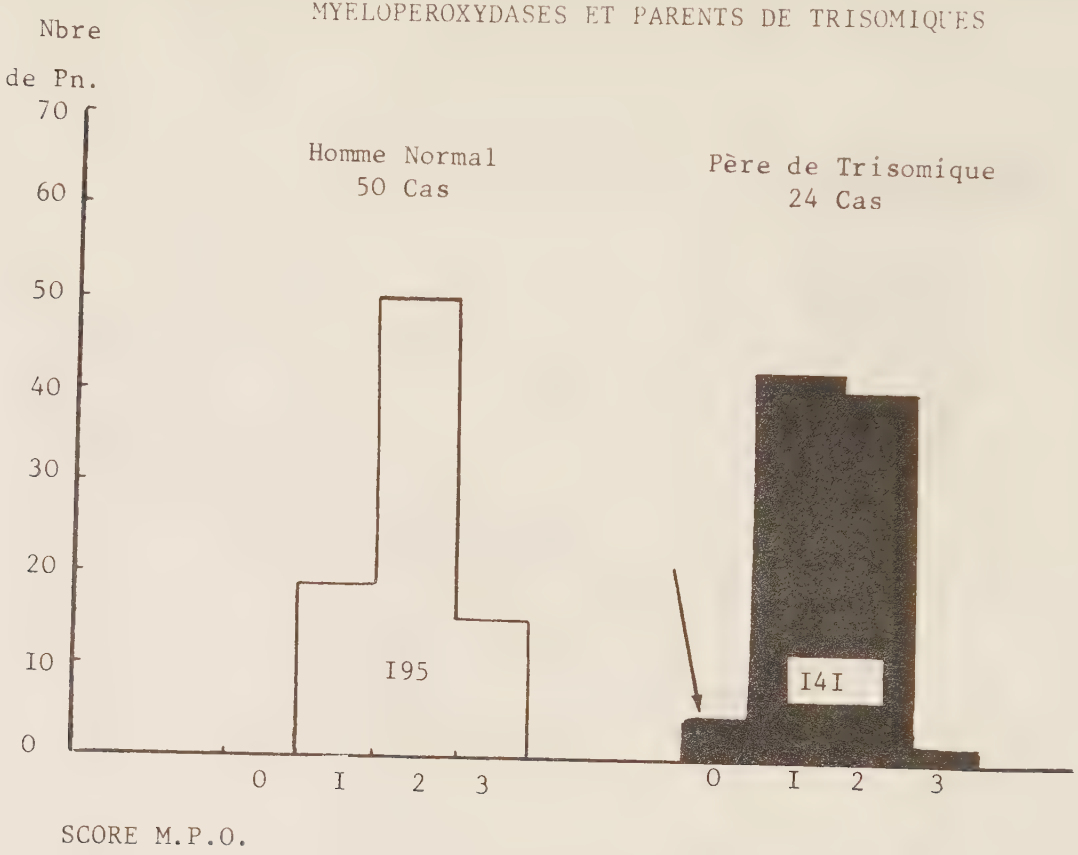

MYELOPEROXYDASES ET PARENTS DE TRISOMIQUES
Nbre
de Pn.
70
60
50
40
30
20
10
0
Homme Normal
50 Cas
Père de Trisomique
24 Cas
I95
I4I
0
I
2
3
0
I
2
3
SCORE M.P.O.

Schéma n° 8.

zyme, mais encore des différences dans le profil enzymatique : les mères de trisomiques ont un certain nombre de polynucléaires de coefficient 0 et le nombre de cellules à coefficient 3 est très diminué. (7-8).

La même différence est notée chez les sujets masculins où la colonne à coefficient 3 a disparu.

Les deux profils enzymatiques ainsi dressés, on s'aperçoit, en outre, qu'ils ne présentent plus l'image caractéristique des profils de sujets masculins et féminins que nous avions notés dans la population témoin.

La myéloperoxydase n'apparaît pas comme le seul score enzymatique modifié chez les parents de trisomiques par rapport à la population témoin.

L'étude des phosphatases alcalines leucocytaires ne met pas en évidence de différences très importantes entre les deux populations :

Le score P.A.L. moyen pour les témoins est à 42,3.
Il est à 49,3 chez les parents de trisomiques.

Ce chiffre ne sort pas de l'intervalle de confiance que nous avons indiqué pour les P.A.L.. Cette différence n'est pas réellement significative.

La comparaison des scores normaux et élevés est dressée dans le tableau suivant, indiquant bien l'absence de modifications parlantes pour les P.A.L. des parents de trisomiques.

P.A.L et TRISOMIE 21

DIAGNOSTIC	P.A.L SCORE NORMAL	P.A.L SCORE AUGMENTE
	20 - 80	100 - 210
Enfants trisomiques 21	3 cas	32 cas
Mère d'enfant trisomique 21	20 cas	2 cas
Père d'enfant trisomique 21	18 cas	2 cas

La réaction du P.A.S. n'objective pas, non plus, de perturbations majeures chez les parents de trisomiques pour les polynucléaires.

Par contre, le P.A.S. sur les lymphocytes montre une différence appréciable entre les deux populations :

- le score moyen témoin est à 22,5
- le score moyen des parents de trisomiques est à 32,9.

Pour mettre en évidence cette variation, nous avons figuré sur un histogramme les pères et mères de sujets trisomiques.
Nous indiquons par deux flèches les limites dans lesquelles se trouve la grande majorité de la population témoin.

On note alors l'étalement de la population parentale vers la droite.
Vingt et un parents, au total, sur quatre vingt sept présentent un excès de matériel P.A.S. + dans leurs lymphocytes.

Nous résumons dans le tableau suivant les moyennes et écarts-types pour chaque enzyme en comparant témoins et parents de trisomiques.

	M.P.O.	P.A.L.	P.A.S. PN.	P.A.S. L
Population témoin	μ 177 σ 22,4	μ 42,3 σ 24,5	μ 168,5 σ 19,3	μ 22,5 σ 15,1
Parents de trisomiques	μ 157 σ 39,7	μ 49 σ 30,8	μ 145,2 σ 35,1	μ 32,9 σ 21

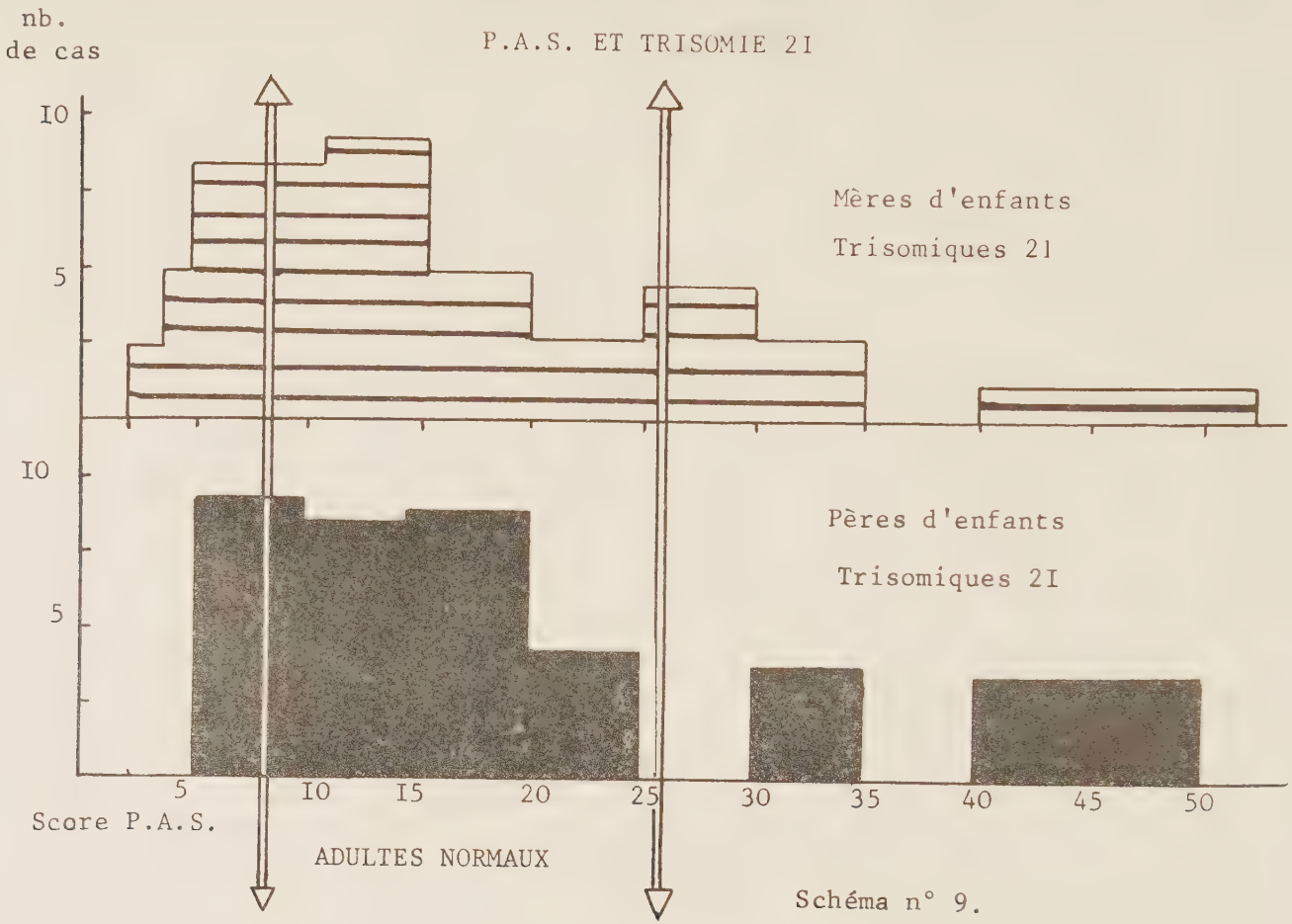

nb.
de cas
P.A.S. ET TRISOMIE 21
10
5
Mères d'enfants
Trisomiques 21
10
5
Pères d'enfants
Trisomiques 21
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Score P.A.S.
ADULTES NORMAUX

Schéma n° 9.

Ainsi apparaît chez les parents de trisomiques, une baisse significative du taux des peroxydases et des modifications moins importantes du P.A.S.

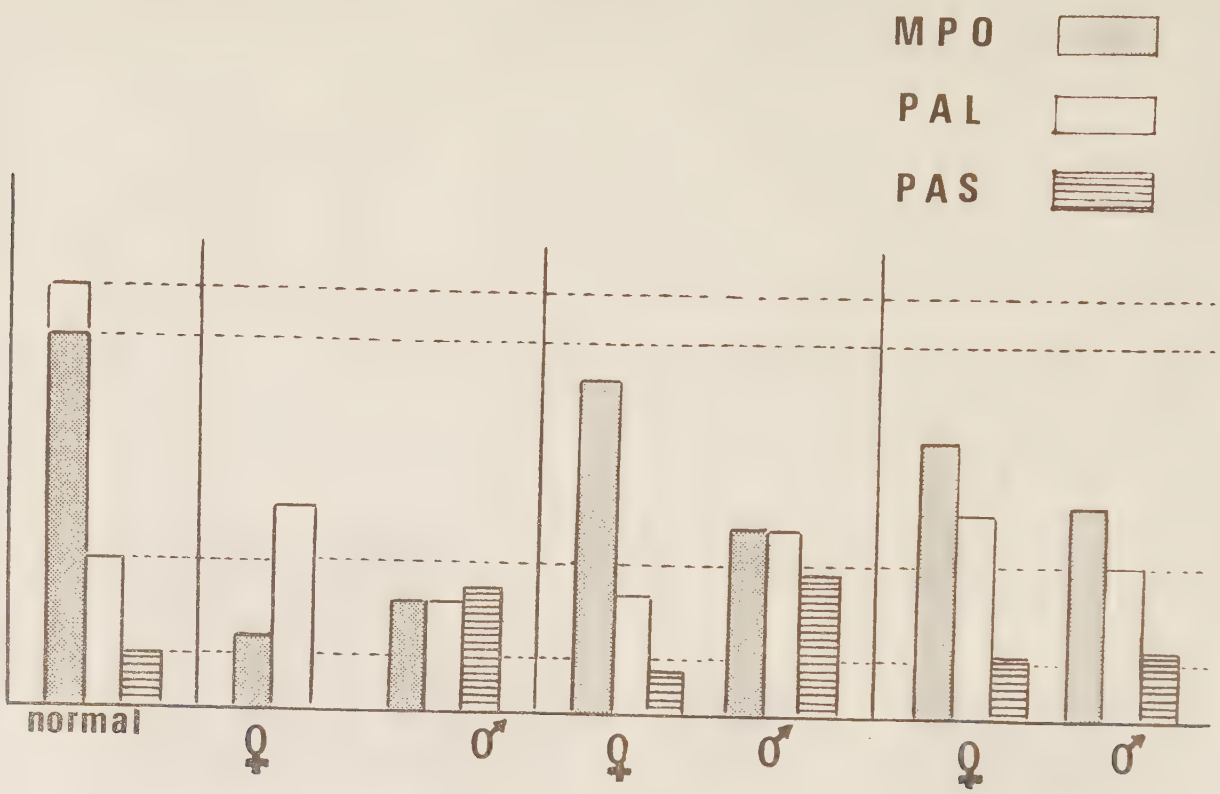
Nous donnons, à titre d'exemple graphique, les taux moyens de ces scores enzymatiques chez les parents normaux et les taux trouvés dans 3 couples de parents de trisomiques. Ce schéma objective parfaitement le déséquilibre enzymatique des ascendants, déséquilibre qui s'exagère dans la population trisomique. (schéma n°9).

II. CYTOCHIMIE LEUCOCYTAIRE DES PARENTS D'ENFANTS ATTEINTS DE SYNDROME DE TURNER OU DE KLINEFELTER.

Il est d'autant plus regrettable de ne pas avoir pu réunir une plus grande quantité d'observations, qu'il semble bien exister dans la plupart des cas, des anomalies enzymatiques.
Elles sont différentes de celles des parents de trisomiques puisqu'elles touchent essentiellement la phosphatase alcaline leucocytaire, cette enzyme semblant anormalement élevée.
Cette élévation du score P.A.L. s'accompagne chez certains parents, en particulier dans le syndrome de Klinefelter, d'anomalies touchant les myéloperoxydases.
Il est impossible de donner la signification exacte de ces anomalies enzymatiques et même d'affirmer qu'elles sont caractéristiques des ascendants de malségrégations touchant les gonosomes.
Retenons, cependant, l'existence d'un déséquilibre enzymatique au sens large du terme chez ces parents, l'anomalie la plus constante étant représentée par l'élévation du score des P.A.L.

Il est probable que ce déséquilibre se précisera lorsque seront rassemblées un nombre important d'observations.

Nous nous proposons donc de poursuivre l'étude cytochimique systématique des ascendants de syndrome de Turner et de Klinefelter.



Parents de Trisomiques 21

Schéma n° 10.

III. COMPARAISON DES DIFFERENTES POPULATIONS ENTRE ELLES.

Nous avons pris pour base les sujets témoins, et l'intervalle de confiance déterminé pour chaque enzyme. Nous rappelons dans le tableau suivant ces intervalles.

Intervalle de confiance pour chaque enzyme.

ENZYME	LIMITE INFERIEURE	LIMITE SUPERIEURE
M.P.O.	134,7	221,18
P.A.L.	0	90,4
P.A.S. Pn.	130,6	206,4
P.A.S. L.	0	52,1

Nous avons comparé les populations de sujets trisomiques et leurs parents.
Nous avons déterminé le nombre d'individus qui, dans chaque population étudiée, sort de l'intervalle de confiance de chaque score enzymatique.

Ces résultats figurent dans le tableau ci-après.
Il permet de mettre en évidence l'hétérogénéïté entre témoins et parents de trisomiques pour les P.A.L.
Le nombre d'anomalies enzymatiques dans les autres groupes diffère de façon significative :
On note que dans les différents scores enzymatiques étudiés un individu sur 2 dans la population des parents de trisomiques, présente une anomalie enzymatique.
Pour les myéloperoxydases et le P.A.S.-lymphocytes, une différence significative existe entre couples témoins et parents de trisomiques.

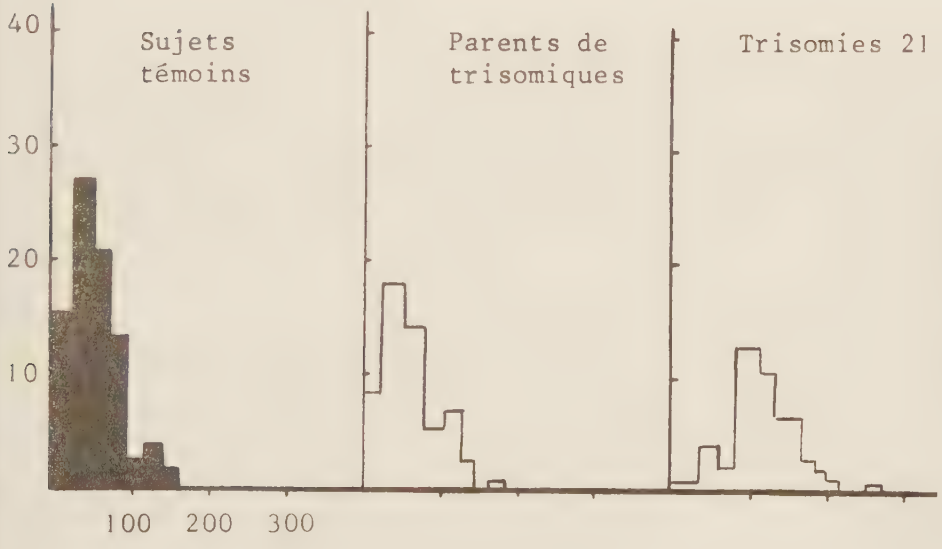
INDIVIDUS SORTANT DE L'INTERVALLE DE CONFIANCE

POPULATIONS	M.P.O.	P.A.L.	P.A.S. Pn.	P.A.S. L.	TOTAUX	SUJETS AFFECTES	EFFECTIFS
TEMOINS	5	4	5	3	17	16	185
TRISOMIE 21	18	25	17	15	75	40	56
PARENTS DE T_{21}	18	8	22	16	64	48	74.

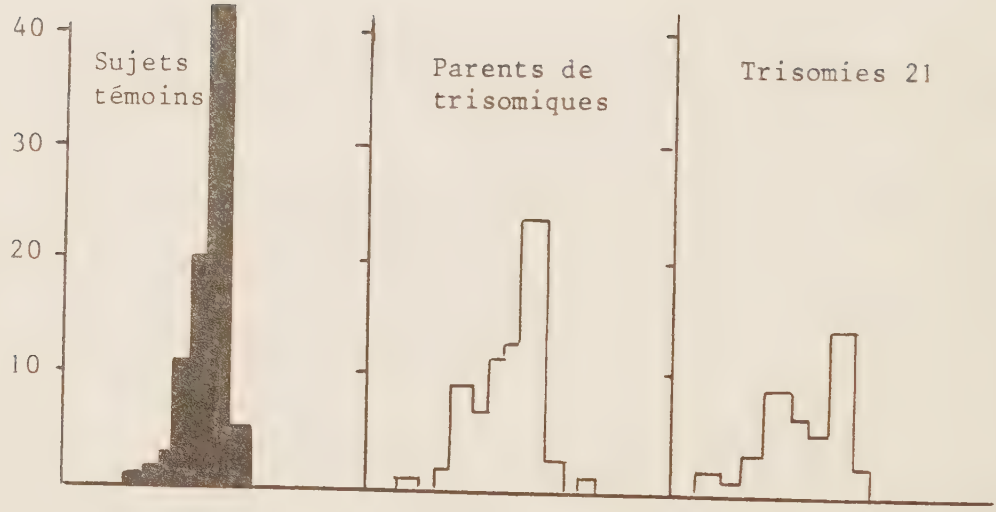
Toujours pour mieux objectiver sur un schéma la différence existant entre populations témoins, parents de trisomiques et sujets trisomiques 21, nous avons établi une série d'histogrammes construits de la manière suivante :

pour chaque réaction, le score enzymatique est noté en abcisse et le nombre de sujets pour chaque score en ordonnée.

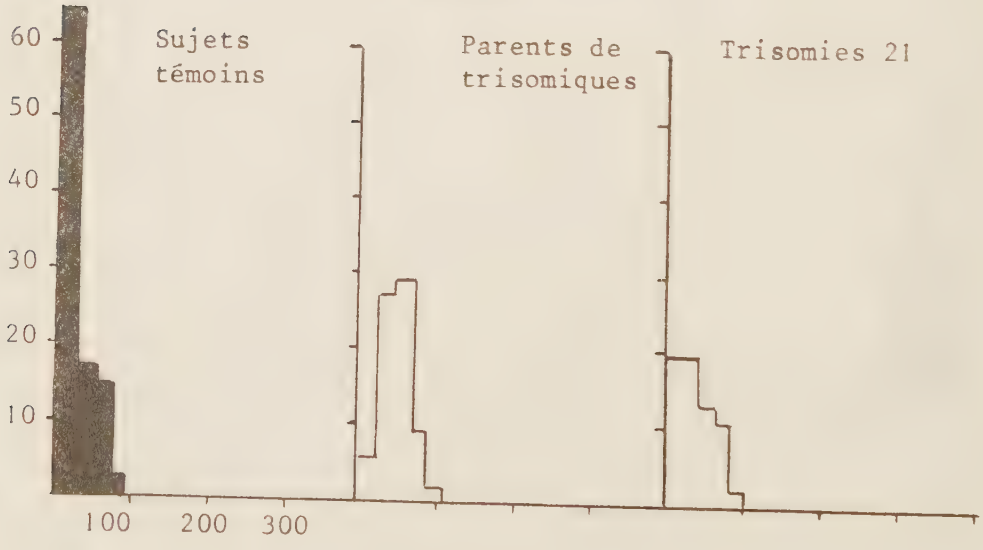
Trois histogrammes successifs représentant les trois populations étudiées ont été tracés.
L'image obtenue objective parfaitement la dégradation des scores enzymatiques qui s'aggrave du sujet témoin au sujet trisomique.



P.A.L.


40
30
20
10
Sujets
témoins
Parents de
trisomiques
Trisomies 21

M.P.O.


60
50
40
30
20
10
Sujets
témoins
Parents de
trisomiques
Trisomies 21
100
200
300

P.A.S._Iy.

Ainsi, les perturbations des scores enzymatiques apparaissent-elles avant la malségrégation chromosomique. Elles sont déjà nettes chez les parents de sujets porteurs de non-disjonction chromosomique.

L'idée d'une anomalie enzymatique, touchant les enzymes énergétiques de la cellule, préexistante à la malségrégation chromosomique peut donc être considérée comme établie.

Cette anomalie enzymatique reste variable.

L'enzyme la plus touchée dans le cas de parents de trisomie G est la myéloperoxydase.

Dans le cas des parents d'enfants XO, c'est la phosphatase alcaline leucocytaire qui semble perturbée de façon significative.

Dans le cas des parents d'enfants XXY, les anomalies sont plus complexes et moins bien définies puisque c'est tantôt, la P.A.L., tantôt la myéloperoxydase qui sont modifiées. Mais, pour les parents d'enfants porteurs de malségrégations touchant les gonosomes, le nombre peu élevé d'observations ne nous permet pas de conclure, de façon aussi nette, que pour les parents de trisomiques 21.

Le défaut enzymatique précède l'anomalie caryotypique. Cela est établi. Mais en est-il la cause ?

Certains travaux peuvent apporter non pas des arguments formels, mais plutôt des faits d'observation qui nous engagent à persévérer dans cette hypothèse.

Le seul élément étiologique statistiquement certain dans les malségrégations congénitales (en particulier dans les trisomies 21 mais aussi pour certains - Murphy - Turpin - dans les trisomies 13 ou 18) est l'âge avancé de la mère. Rappelons à ce sujet que les risques pour une mère d'avoir un enfant trisomique 21 passe de 1/2000 avant 30 ans pour

atteindre 2 % passé 45 ans, soit 40 fois plus.

Mais cette loi statistique est loin de se vérifier constamment et l'on voit assez fréquemment des mères de trisomiques au-dessous de 30 ans.

L'hypothèse d'une anomalie enzymatique à l'échelle cellulaire, anomalie que l'on retrouve de façon tout aussi fréquente que l'âge avancé de la mère, permettrait d'expliquer cette constatation.
La perturbation enzymatique apparaîtrait plus souvent chez les mères âgées où elle pourrait être considérée comme un phénomène de vieillissement au niveau des cellules germinales. Dans des circonstances pathologiques, ce trouble enzymatique pourrait apparaître plus tôt et expliquer pourquoi des mères jeunes mettent au monde des enfants trisomiques.

Si l'on considère qu'un certain nombre d'agents extérieurs (radiations ionisantes, drogues et médications diverses) peut avoir un effet toxique sur la cellule en division,

Si l'on considère également que les thérapeutiques actives se multiplient sans que l'on puisse toujours en connaître tous les effets, en particulier à l'échelle cellulaire, on conçoit très bien qu'une anomalie enzymatique, en elle-même trop minime pour déclencher une malségrégation chromosomique, puisse dans un environnement particulier, jouer un rôle déterminant.

Perreira et Hoefnagel se sont posés cette question à propos de l'action toxique de la colchicine sur la division cellulaire, et, retrouvant 2 % de sujets sous traitement par ce médicament chez les mères de trisomiques, ont évoqué la possibilité d'une action directe de ce produit sur la cellule provoquant une malségrégation dans certains cas.

Les travaux de Ruffié et Coll. (156) sur l'action toxique, à l'échelle cellulaire, du L.S.D. 25 sont encore plus démonstratifs :

L'action teratogène du L.S.D., évoqué dès 1967, par Zellwerger est connue et démontrée chez l'animal.

Hsu et coll. ont signalé les premiers une trisomie D chez une enfant dont les parents avaient usé du L.S.D. avant la conception.

L'augmentation statistique du nombre d'enfants porteurs d'anomalies chromosomiques dans la descendance de sujets intoxiqués par cette drogue a été mise en évidence par Cohen et coll. en 1967.

Ruffié et coll. ont intoxiqué au L.S.D. des singes (Babouin Papio-Papio) et ont étudié chez eux la cytochimie leucocytaire, la réactivité lymphocytaire à la phytohémagglutinine, le caryotype.
Ils notent une élévation très nette de la phosphatase alcaline leucocytaire dont le score est presque doublé 4 semaines après l'injection.
Ils notent encore l'apparition d'anomalies nucléaires majeures, de cellules monstrueuses, dans 6 % des cas après stimulation lymphocytaire par la Phytohémagglutinine.
Enfin, l'étude chromosomique montre qu'il existe avec une fréquence anormale, une aneuploïdie du caryotype avec perte de chromosomes aboutissant à une hypodiploïdie.

Ces modifications cytochimiques et caryotypiques disparaissent au bout de 8 à 10 semaines.

Ces travaux objectivent parfaitement deux notions qui nous paraissent importantes.

- l'anomalie enzymatique est présente. Elle touche ici les P.A.L.

- elle s'accompagne de perturbations de la division cellulaire avec aneuploïdie.

Il est raisonnable de penser que les anomalies enzymatiques et caryotypiques induites par le L.S.D. 25 pourraient être réalisées par d'autres agents qu'ils soient médicamenteux.

ou non, administrés à titre thérapeutique ou sous forme de drogues, ou même ingérés accidentellement (avec l'alimentation par exemple).

Dès lors, sur des cellules germinales déjà fragilisées par une perturbation enzymatique préexistante, de telles agressions pourraient parfaitement entraîner une malségrégation chromosomique dans la descendance.

CONCLUSION

Le but de notre étude était de mettre en évidence des anomalies enzymatiques touchant les enzymes énergétiques de la cellule dans certaines populations.

Nous avons choisi 3 systèmes enzymatiques que nous avons explorés par des méthodes cytochimiques.

Nous avons établi des scores de référence en utilisant une population témoin normale de 82 sujets.

Les mêmes réactions ont ensuite été pratiquées sur une population de sujets porteurs de malségrégation chromosomique congénitale.

Nous avons pu mettre en évidence une baisse des scores de la myéloperoxydase, et une accumulation de matériel P.A.S. + dans les lymphocytes des sujets porteurs d'une trisomie 21, ainsi qu'une élévation du score de la phosphatase alcaline leucocytaire.
Nous avons été amenés alors à discuter du rôle du chromosome 21 et des gènes dont il est le support.

Les sujets atteints de malségrégations touchant les gonosomes nous ont permis d'envisager le déterminisme génétique de la myéloperoxydase et ses relations avec les chromosomes sexuels.

Enfin, la comparaison des populations témoins, de la population de malades porteurs de malségrégations et de la population représentée par leurs parents, nous a permis de prouver qu'il existait des anomalies enzymatiques dont la répartition est particulière :
le déséquilibre enzymatique existe chez les parents de nos malades, alors qu'ils ont un caryotype normal ; il augmente lorsque l'on passe de la population parentale à la population trisomique. Il préexiste donc à la malségrégation.

Nous avons pu montrer qu'il était possible que cette anomalie des enzymes énergétiques cellulaires joue un rôle dans la non-disjonction chromosomique.

Au terme de notre discussion, deux points particuliers méritent d'être envisagés.

- l'écueil de notre hypothèse semble être l'existence de sujets normaux dans la descendance de parents ayant eu un enfant trisomique.
Mais rappelons, cependant, qu'il existe des familles où la malségrégation chromosomique congénitale n'est pas isolée.
Turpin et Lejeune (179) en ont cité quelques cas.
Nous avons nous-mêmes, observé une famille comportant trois enfants de la même fratrie porteurs de trisomie 2I libre.
Notons également que l'anomalie enzymatique, pour jouer son rôle néfaste sur la migration des chromosomes, peut avoir besoin d'un environnement particulier comme nous l'avons signalé plus haut.

- la notion de déséquilibre ou de déficit enzymatique concorde bien avec les données de l'histologie et de la maturation des cellules germinales.
Le "stockage" de l'ovocyte de premier ordre à la fin de la prophase I, pourrait expliquer le vieillissement cellulaire en particulier au niveau des ressources énergétiques.
La diminution du taux des enzymes énergétiques est tout à fait en accord avec ces constatations histologiques d'une part, avec la grande fréquence de l'âge avancé des mères de trisomiques d'autre part.

Si le rôle de l'anomalie enzymatique apparaît possible, voire probable, il n'est pas pour autant prouvé.

En faire la preuve consisterait à mettre en évidence cette anomalie au moment de la division cellulaire chez les ascendants de porteurs de malségrégations congénitales.

Deux voies nous ont paru possibles pour cette étude.

- pratiquer des réactions cytochimiques sur des cellules bloquées dans leur mitose par la colchicine.
Le protocole est celui de l'établissement d'un caryotype à partir de lymphocytes du sang circulant jusqu'au stade de blocage des mitoses.
Il reste alors à centrifuger, éliminer le surnageant, étaler sur lames et pratiquer les réactions cytochimiques. Mais l'adjonction de colchicine est peut-être indésirable pour la cytochimie car nous n'avons pas obtenu de résultats satisfaisants par cette méthode.

- l'étude cytochimique de lymphocytes stimulés par la phytohémagglutinine.
La technique est celle du test des transformations lymphoblastiques avec l'adjonction de phytohémagglutinine diluée au 1/10e. L'étude cytochimique des cellules ainsi stimulées est possible, et nous avons obtenu des lames parfaitement lisibles pour les réactions suivantes : P.A.S., myéloperoxydases, phosphatases alcalines leucocytaires, noir Soudan.
Le lymphocyte ainsi stimulé est une cellule prête à se diviser, à l'opposé du polynucléaire du sang circulant qui est une cellule en fin de lignée, en fin d'évolution. Il se rapproche donc beaucoup de la cellule en mitose et permet une approche de l'état enzymatique au moment de la division cellulaire.

Les travaux de Nadler (125) et de Von Pietschmann (137), qui rapportent l'étude cytochimique de lymphocytes traités par la P.H.A., montrent bien que les réactions normalement négatives sur les lymphocytes deviennent positives et peuvent parfaitement être étudiées.

Nous tenterons donc, dans un travail ultérieur, de réaliser l'approche des perturbations cytochimiques chez les parents d'enfants atteints de malségrégation chromosomique par cette technique, afin de faire la preuve du rôle du dérèglement enzymatique au moment de la mitose.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALTER A. et coll.
Leukocyte alkaline phosphatase in mongolism : a possible chromosome marker. J. Clin. Invest. 1962 - 41 - 1341.

2. ALTER A. et coll.
Genes on the mongol chromosome. Lancet. 1963 - 1 - 506.

3. ASSEMANY S.R., NEU L.R., GARDNER L.
Deformities in a child whose mother took L.S.D. Lancet. 1970, 1, 1290.

4. BAIKIE et coll. Two cases of leukemia and a case of sex chromosome abnormality in the same sibship. Lancet. 1961 ii, 1003.

5. BAIKIE et coll.
Phospho hexokinase activity of erythrocytes in mongolism. Another possible marker for chromosome 21. Lancet. 1965, fev. 412.

6. BARROW V.M., STEFFEK J.A., KING G.C.
Thalidomide syndrome in rhesus monkeys. Folio primat. 1969, 10, 195.

7. BAUTERS F., CROQUETTE M., DELMAS I., DEMINATTI M. et GOUDEMAND M.
Une forme particulière de L.M.C. chez l'homme. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1970, 10, 45.

8. BENDA C.E.
Mongolism and cretinism : Study of Clinical Manifestations and the general pathology of pituitary and thyroïd deficiency. 1947, Heinemann. London, p. 310.

9. BENNET J.M. et coll.
Diagnostic value of leukocyte alkaline phosphatase. A three year experience. Ann. Histoch. Avr. 1966, 11, 173.

10. BENSON F.P., LINACRE B., TAYLOR I.A.
Erythrocyte A.T.P. : phosphofructokinase activity in children with trisomie mosaïc Down's and in normal and Down's syndrome controls. Nature, 1968, 220, 1235.

11. BERGER R.
La constitution XYY. Sem. Hôp. Paris, 1968, 52, 3225.

12. BERGER R.
Anomalies chromosomiques constitutionnelles et leucémies. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1968, 8, 99.

13. BERGER R.
Leucémies, cancers et aberrations chromosomiques. Gaz. Med. Fr. Nov. 1968, 961.

14. BERNARD J., MATHE G., DELORME J.Cl., et BARNOUD O.
Les leucoses des très jeunes enfants. Arch. Fr. Pédiat. 1955, 12, 470.

15. BERNARD J. et LEVY P.
A la recherche du virus des leucémies humaines. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1970, 10, 577.

16. BERTOLOTTI E. et coll.
On possible relation between cytogenetic anomalies and cytochemical alterations of alkaline leukophosphatase in mongolism. Minerva Pédiat. Nov. 1965, 17, 1729.

17. BEUTLER E.
Autosomal inactivation. Lancet. 1963, 1, 1242.

18. BICK A.Y.
Comparison of the effects of L.S.D. Heliotrine and X - irradiation on chromosome breskage and the effects of L.S.D. on the Rate of cell division. Nature. 1970, 226, 1165.

19. BOREL C., FREI J., VANNOTTI A.
Leukocyte metabolism in pregnancey. Acta Endocrinol. 1960, 35, 575.

20. BOUE A., BOUE G.J., DESHAYES E.
Lignées cellulaires humaines avec aberrations chromosomiques. Path. Biol. 1968, 16, 1047.

21. BOUSSER J. et TANZER J.
Syndrome de Klinefelter et leucémie aiguë. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1963, 3, 194.

22. BOUSSER J., BLISKY PASQUIER G., GROUCHY de J., GUERNET M., ZITTOUN J. et coll.
Confrontation des données de l'étude chromosomique avec le taux de la phosphatase alcaline leucocytaire et de la vitamine B_{12}. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1970, 10, 622.

23. BRANDT N.J.
Genes on the mongol chromosome. Lancet. 1962, ii, 837.

24. BRANDT N.J.
Galactose 1 phosphate uridyl transferase on oligophrenic patients (with special reference to patients with Down's syndrome). Danish. Med. Bull. 1963, 10, 50.

25. BRANDT N.J. et coll.
Galactosemia locus and the Down's syndrome chromosome. Lancet. 1963, ii, 700.

26. BRODY J.L. et MERLIE K.
Metabolic and biosynthetic featuses.
Of lymphocytes from patients with diabetes mellitus : similarities to lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. Brit. J. of Haematology, 1970, 19, 193.

27. BURSTONE A.S.
Enzyme histochemistry : its applications in the study of neoplasm. Academic Press. New-York 1962.

28. CAO A., FALORNI A. et de VIRGILIUS S.
G.6.P.D. deficiency in Down's syndrome. Lancet 1970, 3, 621.

29. CARLES E., CASTAN P., PERENNOU S., COLOMBIES P.
Classification automatique du caryotype. Symposium sur l'informatique médicale et la gestion automatisée d'un hôpital. Toulouse, Mars 1968.

30. CLOUD P., GIBOR A.
The oxygen cycle. Scientific American 1970, 11, 111.

31. CLIMIE A.R.W., HIENRICHS W.L., FOSTER L.J.
Neutrophylic alkaline phosphatase test : a review with emphasis on findings in pregnancy. Tech. Bull. Reg. Med. Technol. 1962, 32, 95.

32. COBURN S.P., et coll.
Leukocytes piridoxal phosphate and alkaline phosphatase in Down's syndrome and other retardates. Amer. J. Clin. Nutr. 1969, 22, 1197.

34. COX R.P.
Regulation of alkaline phosphatase in skin fibroblast cultures from patients with Down's syndrome. Exp. Cell. Res. 1964, 37, 690.

35. DAVID F., PAWLIGER D., MARK BARROW B., Ward D. NOYES.
Acute leukaemia and turner's syndrome. Lancet. 1970, 1 1345.

36. DIAMANT Y., THILO E. et coll.
Leukocyte alkaline phosphatase in pregnancy. Comparison with placental phosphatase activity. Clin. Chem. Acta, 1970, 29, 395.

37. DICARLI L. MAIO J.J., NUZZO F., BENERECETTI A.S.
Cytogenetic studies with alkaline phosphatase in human heteroploïd cells. Symposium Quant. Biol. 1964,29,223.

38. DIESKA D. GOCAROVA K.
Diagnosticky Vyznam Stanovenia Aktivity Alkalickej Fosfatasy Neutrofilnych Leukocytoch. OBZOR, MARTIN (C.S.S.R.) 1967, 107.

39. DOERY J. HIRSH J. and COOPERS L.
Energy metabolism in human platelets : interrelationship between glycolysis and oxydative metabolism. Blood, 1970, 36, 159.

40. DOWN J.L.H.
Observations on ethnic classification of idiots. London Hosp. Clin. Lect. & Rep. 1866, 3, 259.

41. DUTRILLAUX B, et LEJEUNE J.
Etude de la descendance des individus porteurs d'une translocation : (DqDq). Annales de Génétique 1970, 1, 11.

42. EDWARDS J.H. et coll.
A new trisomie syndrome. Lancet. 1960, i, 787.

43. ENGEL W. et MELTZER H.
Histochemical abnormalities of skeletal muscle in patients with acute psychoses. Science, 1970, 168, 273.

44. ENGEL W., REINWEIN H., MULLER J. et coll.
Chromosomenbefunde bei 365 patienten unit Down syndrom oder verdacht auf Down syndrom. Humangenetik, 1970, 8, 307.

45. FERREIRA N.R., BUONICONTI A., PESSOA F.O.
Trisomy after colchicine therapy. Lancet. 1969, 1, 1160.

46. FIALKOW P.J., LISKER R., GIBLETTE E., ZAVALA C.
Xg locus : failure to detect inactivation in females with chronic myelocytic leukaemia. Nature, 1970, 226, 367.

47. FOA R. et coll.
Détermination des phosphatases alcalines leucocytaires en hématologie. Marseille Médical, 1968, 105, 973.

48. FORD C.E., JONES K.W., POLANI P.E., ALMEIDA J.C. (de), BRIGGS J.H.
A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis. Lancet. 1959, i, 711.

49. FORTEZA BOVER G. et coll.
Investigación del patron y la cronologia de la duplacacion de los chromosomas G en sujetos mongolicos mediante la timidina tritiada. Rev. Esp. Pediat. 1968, 24, 677.

50. GAHRTON M.D. et coll.
Cytochemical variants of neutrophyl leukocyte population in C.M.L. Scand. J. Hemat. 1969, 6, 365.

51. GALBRAITH D.R. et coll.
Granulopoiesis in Down syndrome pediatrics. 1966, 37, 108.

52. GARDAIS J.
Cytochimie des cellules lymphoïdes pathologiques et des lymphocytes en culture. Mémoire pour l'obtention du certificat d'Hématologie Supérieure de Paris, 1969.

53. GENDREU G.
Etude cytogénétique et cytochimique de 22 cas de leucémies myéloïdes chroniques. Thèse Toulouse, 1971 n° 44.

54. GIANELLI F.
Autoradiographic identification of the D chromosome responsible for D_1 trisomic Patau's syndrome. Nature, 1965, 208, 669.

55. GOUYGOU Ch.
La biopsie testiculaire dans la stérilité masculine. Rev. Prat. 1971, 21, 259.

56. GRAHAM et KNOLL.
Réactions de la peroxydase pour le diagnostic général. Planches d'Hématologie Sandoz, 1952, 28.

57. GROUCHY J. de, BRISSAUD H.E. et coll.
Syndrome 48, XXXX chez une enfant de six ans, transmission anormale de groupe Xg. Ann. Genet. 1968, 11, 120.

58. GROUCHY J de, ROUBIN M. et PASSAGE E.
Microtechnique pour l'étude de chromosomes humains à partir d'une culture de leucocytes sanguins. Ann. Génét. 1964, 7, 45.

59. GROUCHY J. de, THOYER C. et coll.
Etudes cytogénétique, biochimique et morphologique d'une lignée cellulaire continue. Ann. Genet. 1960, 7, 45.

60. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J.
Etude cytochimique de 18 cas de maladie de Kahler. Press. Med. 1969, 77, 54.

61. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J.
Etude du taux des peroxydases en fonction du sexe chez les sujets normaux ou porteurs d'anomalies affectant les gonosomes. Press. Med. 1967, 73, 2715.

62. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J.
Etude des peroxydases des leucocytes du sang périphérique et de la moelle osseuse chez 20 malades atteints de leucémie aiguë ou chronique de la série granulocytaire. Rev. Fr. Etudes Clin. et Biol., 1967, 12, 180.

63. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J.
Etude enzymatique du testicule (travaux non publiés).

64. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J.
Etude cytochimique et chromosomes en dehors des hémopathies. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1969, 9, 722.

65. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J.
Etude comparative du P.A.S. au niveau de la lignée rouge chez 187 sujets normaux ou atteints d'hémopathie. Rev. Fr. Etude Clin. et Biol. 1968, 13, 190.

66. GROZDEA J., COLOMBIES P. et BOULOUX C.
Modification du taux des phosphatases alcalines au niveau des leucocytes du babouin (papio-papio) soumis à l'action du L.S.D. C.R. Acad. Sc. Paris, 1970, série D, p. 334.

67. GROZDEA J., COLOMBIES P., BIERME R., DUCOS J., KESSOUS A.
Etude cytochimique et cytogénétique dans le cadre des hémopathies : 1) la leucémie myéloïde chronique. Nouv. Rev. Fr. Hemat. 1970, 10, 535.

68. GROZDEA J., COLOMBIES P., DUCOS J., BIERME R.
Etude cytochimique de 20 cas de leucémie de la lignée lymphoïde. Press. Med. 1968, 75, 1337.

69. GROZDEA J., COLOMBIES P., VERDIER J., DUCOS J.
Modifications enzymatiques et caryotype aneuploïde.
A paraître.

70. GUNZ F.W. et FITZGERALD P.H.
Chromosomes and leukemia. Blood, 1964, 23, 394.

71. GUNZ F.W. et FITZGERALD P.H.
An abnormal chromosome in chronic lymphocytic leukemia Brit. Med. J. 1962, 2, 1097.

72. HARDISTY R.M., SPEED D.E. et TILL M.
Granulocytic leukemia in childhood. Brit. J. Hemat. 1964, 10, 551.

73. HATTORI K.
Peroxydase and alkaline phosphatase of the leucocytes Jap. J. Clin. Path. 1969, 17, 16.

74. HAYHOE F.G.S., QUAGLINO D.
Cytochemical demonstration and mesurement of leukocyte alkaline phosphatase activity in normal and pathologic states by modified axodye coupling technique. Brit. J. Hemat. 1958, 4, 375.

75. HAYHOE F.G.S., QUAGLINO D., DOLLER R.
Cytology and cyto-chemistry of acute leukemias. Her Majesty stationary office, 1964, 16, 23.

76. HECKNER F.
Polysaccharide in blut und knochen markzellen in : MERKER H. Ed. Zyto und histochemie in der hämatologie Berlin Göttingen-Heidelberg Springer, 1963.

77. HETFLEIS E.
Les réactions cytochimiques en pratique hématologique, application à l'étude de la lignée lymphoïde. Thèse Toulouse, 1970, n° 179.

78. HOLLAND W.W. et coll.
The mortality from leukemia and others cancers among patients with Down's syndrome and among their parents. Brit. j. cancer, 1962, 16, 177.

79. HOLMES B. et coll.
Studies of the metabolic activity of leukocyte from patients with genetic abnormality. J. Clin. Invest. 1967, 46, 1422.

80. HOOK E.B., ENGEL R.R.
Leucocyte life-span, leucocyte alkaline phosphatase and chromosome 21. Lancet. 1964, 1, 112.

81. HSU T.C.
Mamaliam chromosome in vitro. The karyotype of man. J. Hered. 1952, 43, 167.

82. JACOB F.
Biologie moléculaire : la prochaine étape. Atomes 1969, 24, 740.

83. JACOBS A., BAIKIE A.G., COURT-BROWN W.M., Mac GREGOR D.N., Mac LEAN M., et HARDEN D.G.
Evidence for the existence of a human "super female". Lancet 1959, ii, 423.

84. JACOBS A., STRONG J.A.
A case of human intersexuality having a possible XXY sex determining mechanism. Nature, 1959, 183, 302.

85. JANSA P. et coll.
Alkaline phosphatase of leukocyte in mongolism pediat. Grenzgeb, 1968, 7, 211.

86. JEMELIN M., FREI J.
Leukocyte energy metabolism : III. Anaerobic and aerobic A.T.P. production and related enzymes. Enzym. Biol. Clin. 1970, 23, 289.

87. JEROME J.
Des effets biochimiques de quelques chromosomes. Ann. gen. 1964, 7, 88.

88. KAMADA N. et coll.
Chromosome aberration and neutrophile alkaline phosphatase in 43 case of leukemia. J. Kyu. Hemat. Soc. 1967, 17, 115.

89. KAPLAN A.R., FISHER R. et coll.
Research in the etiology of Down's syndrome. Intricacies and pitfalls. Acta Genet. Med. gemell. 1965, 14, 93.

90. KAPLOW L.S.
An histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and bone marrow. Blood, 1955, 10, 1023.

91. KAPLOW. L.S.
Simplified myeloperoxydase staining using benzidine dichloride. Blood, 1955, 26, 215.

92. KELLY S., COPELAND W., ALMY R.
Galactose 1 phosphate uridyl transferase in mongols. New-York state J. Of Med. 1967, Oct., 2714.

93. KENNY J.J. et MOLONEY W.C.
Leukocytic alkaline phosphatase. Behavior during prolonged incubation and infection in normal and leukemic leukocytes. Blood, 1957, 12, 295.

94. KONTRAS S.B. et coll.
Histochemical studies in mongolism. Clinical and cytogenetic implications. Amer. J. Ment. defic. 1966, 71, 226.

95. KRIVIT W., GOOD R.A.
Simultaneous occurence of mongolism and leukemia. J. Dis. Child, 1957, 94, 289.

96. LANE D.S.
A study of leukocyte alkaline phosphatase in normal and diseases states in children. Amer. J. Med. Techn. 1964, Nov. 30, 417.

97. LEJEUNE F.
Techiniques cytologiques utiles en pratique courante. In: cytologie pratique du sang et des organes hematopoïétiques. Levy J.P. et Lortholary S., un vol., Doin, Derein et Cie Ed. Paris 1966.

98. LEJEUNE J., GAUTHIER M., TURPIN R.
Etude des chromosomes somatiques de 9 enfants mongoliens. C.R. Acad. Sc. Paris, 1959, 248, 1721.

99. LEJEUNE J.
Communication personnelle. 1963.

100. LEJEUNE J., BERGER R.
Constitution d'un clone à 54 chromosomes au cours d'une leucoblastose congénitale chez un enfant mongolien. C.R. Acad. des Sciences, Paris, 1963, 248, 1721.

101. LEJEUNE J. et ABONYI D.
Syndrome 48 XXXX chez une fille de 14 ans. Ann. Genet. 1968, 11, 117.

102. LEJEUNE J., DUTRILLAUX B. et coll.
Sur 3 cas de trisomie C. Ann. de génét. 1969, 12, 28.

103. LEWIS F.W., POULDING R.H. et EASTHAM R.D.
Acute leukemia in a XO/XXX mosaïc. Lancet. 1963, ii, 306.

104. LICHTMAN A.M., WEED I.R.
The monovalent cation content and adenosine triphosphatase activity of human normal and leukemia granulocytes and lymphocytes. Blood, 1969, 34, 645.

105. LISON L.
Histochimie et cytochimie animale. Principes et méthodes. Paris, 1953, Gauthier Villards Ed.

106. LORTHOLARY P., LEJEUNE F., TANZER J., MIELOT A., BOIRON BERNARD J.
Etude cytochimique des leucoblastes au cours de la transformation aiguë de la leucémie myéloïde chronique. Press. Med. 1966, 74, 1237.

107. LUERS Th. et LUERS H.
Uber die segmentierungshemmung der neutrophilen leucocyten bei mongolismus. Artzl.Forsch, 1954, 8, 263.

108. LUBS H.A. et RUDDLE F.H.
Chromosomal abnormalities in the human populations estimation of rates based on New Haven Newborn study. Science 1970, 169, 495.

109. MAC COY E.E.
Induction of leukocyte alkaline phosphatase by steroïds in Down's syndrome. Alabama J. Med. Sci. 1966, 3, 447.

110. MAC COY E.E.
Steroïd mediaded changes of leucocyte alkaline phosphatase activity in Down's syndrome. Pediatrics, 1966, Dec. 38, 996.

111. MAC MANUS J.F.A.
Histological demonstration of mucine after periodic acid Nature, London, 1946, 158, 202.

112. MAC GLOTHLIN H.W., SPARKS S.R., ARNOLD O.D.
Effect of L.S.D. on human pregnancy.Jama, 1970, 212, 1483.

113. MANUNES P., LAPIDUS T., ABBOT J., ROATH S.
Acute leukemia and klinefelter's syndrome. Lancet, 1961, ii, 26.

114. MASERA F. et coll.
Anomaly of chromosome 21 and alkaline phosphatase in leukemia. Bull. soc. ital. biol. sper. 1965, july, 748.

115. MAUREEN L., O'RIORDAN W. et coll.
Chromosomes studies on bone marrow from a male control population. Brit. J. Hemat. 1970, 19, 83.

116. MAURO F. et MADOC H.J.
Age responses of cultured mamalian cells to cytotoxic drugs.Cancer Research, 1970, 30, 1397.

117. MELLMAN W.J., OSKI F.A., TEDESCO T.A., HARRIS H.
Leukocytes enzymes in Down's syndrome. Lancet, 1964, 2, 674.

118. MERKER H.
Leukocyte alkaline phosphatase in the hematological and general significance.Deutsch Med. Wschr. 1965, march, 90. 484.

119. MILLER O.J. et coll.
A family with an XXXXY male, leukemia male, and two 21 trisomic mongoloïd femal. Lancet. 1961, ii, 78.

120. MILLER O.J.
Leukocyte alkaline phosphatase in mongolism. Neurol. Minneapolis, 1966, 16, 577.

121. MITTWOCH V.
Leukocyte count in children with mongolism. J. Ment. Sc. 1958, 104, 457.

122. NADLER H.L.et coll.
Enzyme activity in white blood cells : 10 patients with Down's syndrome. Blood, 1967, XXX, 670.

123. NADLER H.L.
Enzyme in trisomy 18 syndrome. Lancet, 1966, june, 1, 1270.

124. NADLER H.L. et coll.
Lymphocyte and granulocyte enzyme activity in patients with Down's syndrome. Blood, 1967, 30, 669.

125. NADLER H.L. et coll.
Enzymes studies during lymphocyte stimulation with Phytohemagglutinin in Down's syndrome. Life Science. 1967. 6, 2003.

126. NOEL B., QUACK B., DURAND Y. et RETHORE M.O.
Les hommes 47, XYY. Ann. de génétique, 1969, 4, 223.

127. NOWELL.P.C., HUNGERFORD D.A.
A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia.Science, 1960, 132, 1497.

128. NOWELL P.C., HUNGERFORD D.A.
Chromosome changes in human leukemia : tentative of their significance. Ann. N.Y. Acad. Science, 1964, 654.

129. O'SULLIVAN M.A. et coll.
A comparison of leukocyte alkaline phosphatase determination in 200 patients with mongolism and 200 familial controls. New Eng. J. Med. 1963, 268, 1168.

130. PAINTER T.S.
The Y chromosome in mammals. Sciences, 1921, 53,503.

131. PANTELAKIS S.N., KARAKLIS A.G. et coll.
Red cell enzymes in trisomy 21. Blood, 1970, 2, 184.

132. PATAU K., SMITH D.W. et coll.
Multiples anomaly caused by an extra autosome. Lancet. 1960, i, 790.

133. PAVAN G.
Conceptions actuelles de la structure des chromosomes et de leurs fonctions. Triangle, 1966, 8, 285.

134. PEACOCK A.A., BRECHER G., HIGHSMITH E.M.
Simplified procedure for quantitative mesurement of alkaline phosphatase in white blood cells. J. Clin. Path. 1958, 29, 80.

135. PERCHERON F., PAQUIN R.
Sur la spécificité de la réaction à l'acide périodique fuschine de Scheiff appliquée à la révélation des glycoprotéines. Bull. Soc. Chim. Biol. 1961, 43, 397.

136. PERRY S.
Biochemistry of the white blood cells. J. A. M. A. 1964, dec. 190, 918.

137. PIETSCHMANN H.
Cytochemical studies of leukocytes cultures. Wien Z. inn Med. 1969, 50, 360.

138. POZO OLANO J.D.
Biochemical and cytochemical study of leukocyte M.P.O. Nouv. Rev. Fr. d'Hemat. 1967, 7,455

139. PRIETO et coll.
Identification of the Philadelphia (Ph_1) chromosome. Blood, 1970, 35, 23.

140. QUAGLINO D. et HAYHOE F.
Periodic acid Schiff positivity in erythroblast with special reference to Di Giuglielmo's diseases. Brit. J. Hemat. 1960, 6, 26.

141. RAAB S.O., MELLMAN W.J., OSKI F.A., BAKER D.
Abnormal leukocyte kinetics. An explanation for the enzymes abnormality observed in trisomy 21. Soc. Ped. Res. 1966, 9, 172.

142. RAELENE L., KINLOUGH-RATHBONE et coll.
The effect of glucose on adenosine diphosphate induced platelet aggregation. J. Lab. Clin. Med. 1970, 5, 780.

143. RAY P.K. et PINKERTON P.H.
Leukocyte alkaline phosphatase : the effects of age and sex. Acta Hemat. 1969, 42, n° 1, 18.

144. REISMAN L.E. et TRUJILLO J.M.
Chronic granulocytic leukemia of childhood. J. Ped. 1963, 62, 710.

145. RIDLER M.A.
A mosaic mongol with normal leukocyte chromosome. Brit. J. Psychiat. 1965, fev. 111, 183.

146. ROBINSON J.C., PIERCE J.E., GOLDSTEIN D.P.
A phosphatase electrophoretic variants associated with chronic myelogenous leukemia. Sciences, 1965, 150, 58.

147. ROSEN R.B., TEPLIT R.L.
Chronic granulocytic leukemia complicated by ulcerative colitis : elevated leukocyte alkaline phosphatase and possible modifier gene deletion. Blood. 1965, 26, 148.

148. ROSEN R.B., MILHOLLAND R., ROSEN F.
A comparison of the effect of glucocorticoïds on glucose uptake and hexokinase activity in lymphosarcoma. Biochem. Biophys. Acta. 1970, 219, 447.

149. ROSNER F., HONG B.H., PAINE R.S. et coll.
Biochemical differenciation of trisomic Down's syndrome from that due to translocation. New Eng. J. Med. 1965, 273, 1356.

150. ROSNER F.
Erythrocyte enzymes in Down's syndrome. Lancet. 1970, 5, 951.

151. RUDKIN G.T. et coll.
D.N.A. contents of chromosome Ph_1 in human chronic granulocytic leukemia. Sciences, 1964, 114, 1229.

152. RUFFIE J. et LEJEUNE J.
Deux cas de leucose aiguë myéloblastique avec cellules sanguines haplo-21 ou 22. Rev. Fr. Etud. Clin. Biol. 1962, 7, 644.

153. RUFFIE J., LEJEUNE J., MOURLAN A.M.
Sur les anomalies chromosomiques rencontrées au cours des leucémies aiguës. 9e Congrès International d'Hématologie Mexico, 1962.

154. RUFFIE J., BIERME R. et DUCOS J.
Un nouveau cas de leucose aiguë myéloblastique à 2 populations de cellules (une population normale et une population haplo-21). Soc. de Med. Seance 30 avril 1963.

155. RUFFIE J., DUCOS J., COLOMBIES P., CARLES E.
Les anomalies chromosomiques dans les leucoses aiguës. Com. Soc. Fr. d'Hemat. 18 mars 1968.

156. RUFFIE J., COLOMBIES P., DUCOS J., MOUNIE Ch.
Anomalies nucléaires apparaissant après stimulation par la P.H.A. au niveau des lymphocytes de Babouin Papio-Papio soumis à une injection de L.S.D. C.R. Acad. Sc. 1970, 270, 4, 644.

157. SACHS E.S. et coll.
Alkaline phosphatase activity in leukocyte of patients with trisomy G-normal mosaisism. Amer. J. Clin. Path. 1970, 54, 699.

158. SAMMOUR M.B. et coll.
Alkaline phosphatase activity of leukocyte in relation with oral contraceptive. Amer. J. Obstet. Gynec. 1969, 103, 823.

159. SANDBERG A.
Chromosome and acute leukemia. XII congress. International Society of Hematology, New-York, 1968, 51.

160. SCHAPIRA F.
Isozymes et Cancer. Path. Biol. 1970, 18, 309.

161. SCHAPIRA G., DREYFUS H., SCHAPIRA F.
Biochemistry of striated muscle during human muscular diseases. Enzym. Biol. Clin. 1970, 11, 8.

162. SHAPIRO A.
The differential leukocyte count in mongols. J. Ment. Sc. 1949, 95, 689.

163. SCHMID W.
D.N.A. replication patterns of human chromosomes. Cytogenetics, 1963, 2, 175.

164. SCHUPPISSER R. et coll.
Enzyme bei trisomie 21 (mongolismus). Schweiz. Med. Wochens. 1967, 97, 1540.

165. SIGLER A.T., COHEN B.H. et coll.
Mongolisme:enquête chez les parents (462 couples). J. of Pediatrics, 1967, 4, 608.

166. SINGH P.M., KALIA S.C., JAIN K.H.
Chromosomal aberration induced in barley by L.S.D. Sciences, 1970, 167, 491.

167. SPARKES R.S.
Blood cells enzymes in translocation Down's syndrome. Amer. J. Human genet. 1969, 21, 430.

168. STEVENS T.B., DELGADO D.G., CORY J.C.
Non-random chromosome losses in Down's syndrome. Nature, 1970, 227, 499.

169. STEWART A.M.
Etiology of childhood malignencies congenitally determined leukemias. Brit. Med. J. 1961, i, 452.

170. STRAUSS R.R., PAUL B.B. et coll.
The metabolic and phagocytic activities of leukocytes from children with acute leukemia. Cancer Research. 1970, 30, 480.

171. TANZER J., HAMPE A., BENSIMON P., BOIRON M. et BERNARD J.
L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la L.M.C. Son intérêt pratique. Nouv. Rev. Fr. d'Hemat. 1965, 5, 873.

172. TANZER J., LORTHOLARY P., LEJEUNE F., HAMPE A., BOIRON M. BERNARD J.
Intérêt des techniques cytochimiques pour l'étude des modifications de l'équipement enzymatique des leucocytes au cours des leucémies. Nouv. Rev. Fr. d'Hemat. 1966, 6, 317.

173. TELFER M., RICHARDSON C. et coll.
Divergent phenotypes among 48, XXXX and 47, XXX femals. Amer. J. human genet. 1970, 22, 326.

174. TEPLITZ R.L.
Regulation of leukocyte alkaline phosphatase and the Philadelphia chromosome. Nature, 1966, 209, 821.

175. TETTENBORN U., GROPPA P., MURKEN T.D. et coll.
Meiosis and testicular histology in XYY males. Lancet. 1970, 1, 267.

176. TIJO J.H., LEVAN A.
The chromosome number of man. Hereditas. 1956, 42, 1.

177. TURPIN R. et BERNYER C.
De l'influence de l'hérédité sur la formule d'Arneth (cas particulier du mongolisme). Rev. d'Hemat. 1947, 2, 189.

178. TURPIN R., LEJEUNE J., LAFOURCADE J. et GAUTHIER M.
Aberrations chromosomiques et maladies humaines. La polydyspondylie à 47 chromosomes. C.R. de l'Acad. Sciences, Paris 1959, 248, 3636.

179. TURPIN R. et LEJEUNE J.
Les chromosomes humains. Gauthier Villars, Paris, 1965.

180. TURPIN R., LEJEUNE J et GAUTHIER M.
Les anomalies humaines congénitales par aberration chromosomique. First Int. Cong. congenital malform. 24 july 1960, London.

181. TRUBOWITZ S., KIRMAN D., MASEK B.
The leukocyte alkaline phosphatase in mongolism. Lancet. 1962, 2 , 486.

182. UCHIDA I.A., RAY M., Mac RAE K.N., BESANT D.F.
Familial occurence of trisomy 21. Amer. J. human genet. 1968, 20, 107.

183. UNDRITZ E.
The peroxydase reactions and their pratical significance Proc. 9 th Cong. Europ. Soc. Hemat. Lisbonne, 1963, 193.

184. VALENTINE W.N., BECK W.S.
Biochemical studies on leukocytes phosphatase activities in health, leukocytosis, and myelocytic leukemia. J. Lab. Clin. Med. 1951, 38, 39.

185. VALENTINE W.N., FOLETTE J.H. et coll.
Relation of leukocyte alkaline phosphatase to stress, to A.C.T.H. and to 17 OH corticosteroïds. J. Lab. Clin. Med. 1951, 49, 723.

186. VALENTINE W.N., FOLETTE J.H., SOLOMON D.H., REYNOLDS J.
Biochemical and enzymatic characteristics of normal and leukemic leukocytes with particular reference to leukocyte phosphatase. The leukemias, etiology, pathophysiology and treatment. Henri Ford Hospital International Symposium, Acad. Press. Inc. N.Y., p. 457, 1957.

187. VERGNES H.
Enzymes et leucocytes. Nouv. rev. Fr. d'Hemat. 1966, 6, 301.

188. VERGNES H. et BLUM C.
Variation de l'activité des N.A.D.P. oxydo-réductases de la voie des pentoses dans les leucocytes et les érythrocytes au cours de la stimulation thyroïdienne par la T.S.H. chez l'homme. Enzym. Biol. Clin. sous Presse.

189. WACHSTEIN M. , WOLF G.
Chemical demonstration of esterase activity in human blood and bone marrow smears. J. histochem. Cytochem. 1958, 6, 957.

190. WARKANY J., SHUBERT W.K., THOMPSON J.N.
Chromosomes analysis in mongolism associated with leukemia. New Engl. J. Med. 1963, 268, 1.

191. WEBER W.W., MILWOCH et coll.
P.A.L. in Klinefelter syndrome. J. Med. Genet. 1965, 2, 112.

192. WHITE L., IANNETTA A., KAPLAN E., DAVIS S., WEDGWOOD R.
Leukocytes in Job's syndrome. Lancet. 1969, 7, 595.

193. WILKINS L., GRUMBACH, WYCK J.J.
Chromosomal sex in ovarian agenesis. J. Clin. Endoc. and Metab. 1954, 14, 1270.

194. WINIWARTER H. de.
Etude sur la spermatogénèse humaine. Arch. Biol. 1912, 27, 91.

195. YUNIS J.J., HOOK E.B., MAYER M.
D.N.A. replication analysis in identifying the cytogenetic defect in Down's syndrome. Lancet. 1965, 1, 465.

196. YUNIS J.J., HOOK E.B., MAYER M.
Identification of the trisomy 21 chromosome by D.N.A. replication analysis. Amer. J. human Genet. 1965, 17, 191.

197. ZITTOUN R. et BERNADOU A.
Recherche de différentes anomalies erythrocytaires dans les leucémies.
Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol. 1970, XV, 215.

-:-:-:-:-:-:-:-

Vu et permis d'imprimer

TOULOUSE, le 3 Septembre 1971

Le Président de Thèse :
Raymond SOREL

Le Président de l'Université :
Louis LARENG.